



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los alimentos

Diseño de un tratamiento de altas presiones para el desarrollo de pulpas de fruta Zero
Residuos destinadas a alimentación infantil

Design of a high pressure treatment for the development of Zero Residues fruit pulps
intended for baby food industry

Autor/es

María Pellicer Luz

Director/es

Rosa Oria Almudí
Esther Arias Álvarez

Facultad de Veterinaria

2016



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los alimentos

Diseño de un tratamiento de altas presiones para el desarrollo de pulpas de fruta Zero
Residuos destinadas a alimentación infantil

Design of a high pressure treatment for the development of Zero Residues fruit pulps
intended for baby food industry

Autor/es

María Pellicer Luz

Director/es

Rosa Oria Almudí
Esther Arias Álvarez

Facultad de Veterinaria

2016

ÍNDICE:

1. Resumen/Abstract	2
2. Introducción	4
2.1. Antecedentes y justificación	4
2.2. Estado del arte	5
3. Objetivos	7
4. Material y métodos	7
4.1. Definición previa de la formulación a pequeña escala y diseño experimental	7
4.2. Metodología utilizada en el análisis de los parámetros de calidad de las pulpas	11
4.2.1. Parámetros físico-químicos	11
4.2.2. Parámetros nutricionales	11
4.2.3. Parámetros microbiológicos	12
4.2.4. Parámetros organolépticos	13
4.2.5. Parámetros reológicos	14
4.2.6. Actividad polifenoloxidasas	15
5. Resultados y discusión	16
5.1. Influencia del tratamiento de HPP en los parámetros físico-químicos.	16
5.2. Influencia del tratamiento de HPP en la susceptibilidad al pardeamiento (actividad PPO y evolución de la Abs_{420nm}).	18
5.3. Influencia del tratamiento de HPP en las propiedades reológicas.	20
5.4. Influencia del tratamiento de HPP en el valor nutricional.	22
5.5. Influencia del tratamiento de HPP en la calidad microbiológica.	23
5.6. Influencia del tratamiento de HPP en las características organolépticas (compuestos aromáticos y perfil de azúcares y ácidos).	25
6. Conclusiones/Conclusions	32
7. Aportaciones en materia de aprendizaje	35
8. Bibliografía	37
9. Anexo(s)	40

1. RESUMEN

El principal objetivo de este Trabajo Fin de Grado ha sido profundizar y ampliar el conocimiento del alumno en las diferentes metodologías empleadas habitualmente en el análisis de calidad de alimentos. Este trabajo se encuadra dentro del marco de un proyecto co-financiado por la Unión Europea dentro del programa LIFE+ y que lleva por título: “LIFE + Zero Residues: towards a sustainable production and supply chain for stone fruit”, cuyo objetivo es mejorar la sostenibilidad y la calidad de la producción de fruta de hueso para crear un sector más competitivo y medioambientalmente más sostenible. Concretamente, durante el trabajo el alumno ha participado en la optimización de un tratamiento de altas presiones hidrostáticas para la obtención de pulpas de fruta ZR destinadas a alimentación infantil y su estudio de vida útil en refrigeración.

Para el desarrollo del trabajo se han utilizado 3 tipos de frutas de hueso –melocotón (var CG-58), nectarina (var. 603) y paraguayo (var. Ufo)- todas ellas cultivadas según el protocolo de cero residuos certificado por ZERYA®, bajo el cual un producto podrá ser considerado libre de residuos si todas las materias activas analizadas se encuentran por debajo de 0.01 ppm. Se ha evaluado la influencia de las condiciones de tratamiento aplicando 2 niveles de presión (400MPa, 600MPa) durante un mismo tiempo (3 minutos) en los diferentes parámetros de calidad del producto final. Para ello se han analizado, de forma periódica, los diferentes parámetros físico-químicos, nutricionales, microbiológicos, enzimáticos, reológicos y organolépticos de las diferentes pulpas, durante un tiempo de conservación de 28 días a 4°C.

Durante su Trabajo Fin de Grado el alumno ha conocido la aplicación de una de las tecnologías emergentes de conservación más ampliamente utilizadas para el desarrollo de este tipo de productos, las altas presiones. Además, se ha familiarizado con diversos tipos de analíticas y metodologías, que han ido desde análisis simples (utilizados habitualmente en los laboratorios de control de calidad en la industria) como la determinación del color, consistometría o contenido en °Brix, hasta analíticas más complejas como son el análisis enzimático, reológico o cromatografía de líquidos y gases para la identificación de compuestos aromáticos y perfil de azúcares o ácidos. Igualmente, se han aplicado diferentes tratamientos estadísticos para cada una de las técnicas utilizadas, ayudando al alumno a completar su formación y aportando una visión más amplia del uso de diferentes técnicas analíticas, planteamiento de estudios de vida útil y evaluación de resultados.

ABSTRACT

The principal aim of this work has been to deepen and to extend the students' knowledge in the different methodologies commonly used in the analysis of food quality. This work fits inside the frame of a project financed jointly by the European Union inside the program LIFE + and that goes for title: " LIFE + Zero Residues: towards to sustainable production and supply chain for stone fruit ", whose aim is to improve the sustainability and the quality of the production of bone fruit of to create a more competitive sector and environmentally more sustainable. Specifically, during the work the student has participated in the optimization of a treatment of high hydrostatic pressures to obtain ZR fruit pulps intended for infant feeding and his study of useful life in refrigeration.

For the development of the work there have been in use 3 types of bone fruits - peach (var CG-58), nectarine (var. 603) and flat peach (var. Ufo) - all of them cultivated according to the protocol of zero residues certified by ZERYA, under which a product will be able to be considered to be free of residues if all the active analyzed matters are below 0.01 ppm. There has been evaluated the influence of treatment conditions applying 2 levels of pressure (400MPa, 600MPa) during the same time (3 minutes) in the different parameters of quality of the final product. For it the different physicist - chemist parameters, nutritional, microbiological, enzymatical, rheological and organoleptic have been analyzed, periodically, of the different pulps, during a time of conservation of 28 days at 4°C.

During his work the student has known the application of one of the emergent technologies of conservation more widely used for the development of this type of products, the high pressures.

In addition, it has familiarized itself with diverse types of analytical and methodologies, which have gone from simple analysis (commonly used in the laboratories of quality control in the industry) as the determination of the color, consistency or content in °Brix, up to analytical more complex since it are the enzymatical analysis, rheological analysis or chromatography of liquids and gases for the identification of aromatic compounds and sugars or acids profile. Equally, different statistical treatments have been applied for each of the used technologies, helping the student to complete his formation and providing a more wide vision of the use of different analytical techniques, exposition of studies of useful life and evaluation of results.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Antecedentes y justificación:

El presente Trabajo Fin de Grado se ha desarrollado dentro del marco del proyecto europeo “LIFE+ Cero Residuos”, co-financiado por el programa LIFE+. El principal objetivo de este proyecto es desarrollar la metodología Cero Residuos, hasta ahora aplicada mayoritariamente en hortalizas, para la producción de fruta de hueso incluyendo las adaptaciones tecnológicas que se requieren a nivel de cultivo, conservación postcosecha o procesado (<http://ceroresiduos.eu/objetivos/objetivos-39.html>). Hoy en día existen diferentes protocolos para la producción de fruta libre de residuos. La certificación Zerya®, aplicada en el proyecto, exige en su Reglamento que cualquier materia activa determinada analíticamente esté por debajo de 0,01 ppm.

Este Trabajo Fin de Grado se ha desarrollado durante la ejecución de una de las actividades finales del citado proyecto, consistente en el desarrollo de un producto en base a pulpas o purés de fruta ZR y dirigido al sector de alimentación infantil. Para ello se ha utilizado una de las tecnologías de conservación de alimentos más ampliamente extendida en los últimos años, la tecnología de altas presiones, considerada como la alternativa ideal al tratamiento térmico de frutas y verduras. El tratamiento de alimentos por altas presiones es la tecnología, de las denominadas emergentes, con mayor éxito a nivel industrial y que ha conseguido llegar a los mercados con una amplia variedad de productos. En lo que se refiere a frutas y verduras, de entre los productos tratados mediante altas presiones que ya están en el mercado, destacan los purés, salsas o productos 'listos para consumir'. La principal ventaja es el importante aumento de la vida útil sin alterar de forma importante las propiedades sensoriales y nutricionales del producto fresco. Es por este motivo que fue la tecnología seleccionada para diseñar el proceso de producción y desarrollar el nuevo producto a partir de la fruta de hueso ZR no destinada al consumo en fresco.

2.2. Estado del arte:

Numerosos estudios e instituciones como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Unión Europea o asociaciones como la *European Fruit Juice Association* (AIJN), avalan que el consumo regular de frutas y hortalizas propio de la dieta mediterránea puede llegar a tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad y ser indispensables a largo plazo para nuestra salud cuando se consumen formando parte de unos hábitos alimentarios saludables (Spencer *et al*, 2008; O' Neil *et al*, 2011; Wang *et al*; 2014). Desde este punto de vista, el concepto clásico de “nutrición adecuada” que aporta los nutrientes suficientes (hidratos de carbono, proteínas, grasas, vitaminas y minerales) para satisfacer las necesidades orgánicas tiende a ser sustituido por el de “nutrición óptima”, que incluye, además, la potencialidad de los alimentos para promocionar la salud, mejorar el bienestar y reducir el riesgo de desarrollar enfermedades (Silveira Rodríguez *et al.*, 2003; Martínez-Navarrete *et al.*, 2008).

Los beneficios del consumo de frutas en la salud parecen estar relacionados con la presencia de un amplio grupo de sustancias bioactivas denominadas fitoquímicos. Sus efectos beneficiosos están en relación con su papel en la prevención del desarrollo de distintos tipos de cáncer y de enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares, e incluso la enfermedad del Alzheimer. Algunos de estos, como los compuestos fenólicos, no sólo tienen un impacto directo en la calidad de los productos que los contienen contribuyendo a su atractivo sensorial, sino que son potentes agentes protectores ante el desarrollo de enfermedades mediadas por radicales libres (Martínez-Navarrete *et al.*, 2008; Blasa *et al.*, 2010; Cámara *et al*, 2011).

Además, en las últimas décadas se han producido una serie de cambios en los hábitos de alimentación, uniéndose al eje salud, el factor “comodidad de uso”. Según el último informe de datos y tendencias elaborado por la Food Drink Europe, organización que representa al sector de la alimentación y bebidas en Europa (<http://www.mintel.com/global-food-and-drink-trends-2015>), actualmente los **tres principales ejes que siguen marcando la innovación en el sector de la alimentación son placer, salud y comodidad de uso**. Por lo tanto, indiscutiblemente, para poder tener éxito en el mercado, los nuevos desarrollos o productos del sector agroalimentario tienen que ir enfocados a cumplir estas premisas. El prototipo de producto que se pretende desarrollar durante el presente Trabajo de Fin de Grado cumple las 3 exigencias

anteriormente citadas, resaltando sus potenciales beneficios para la salud, tanto por su elevado contenido en compuestos fitoquímicos como por su bajo contenido en residuos fitosanitarios, lo que le hace ser un producto especialmente destinado a la población infantil.

La necesidad de consumir fruta y verdura combinada con el estilo de vida actual ha llevado al sector hortofrutícola a desarrollar una **perspectiva más amplia e innovadora que los proyectos previos del sector.**

Está ampliamente demostrado que los tratamientos térmicos usados tradicionalmente en la industria alimentaria para la conservación de los productos provocan ciertos efectos no deseados, como son el cambio de sabor y color o el descenso del contenido de compuestos de interés nutricional, especialmente importantes en el caso de las frutas y hortalizas. Los nuevos hábitos de consumo llevan al consumidor a ser más exigente con la calidad de los productos que compra, planteándose adquirir productos lo más libres de aditivos posibles y que presenten una mayor calidad nutritiva y sensorial. Esta nueva tendencia del consumidor es la desencadenante en los últimos años del desarrollo de procesos ‘no térmicos’ (o tecnologías alternativas) en la industria alimentaria como son el uso de ultrasonidos, pulsos eléctricos, irradiación y, por supuesto, las altas presiones hidrostáticas (Cullen *et al.*, 2012). Esta última permite la inactivación de microorganismos patógenos y alterantes de alimentos con cambios mínimos en su textura, color y sabor.

Gracias al procesado por altas presiones, la industria alimentaria tiene la posibilidad de introducir en el mercado productos más naturales, frescos y seguros. Se trata de una técnica de procesado no térmico que consiste en someter al alimento, previamente envasado en su envase final, a altos niveles de presión hidrostática (100MPa-600MPa) durante unos minutos y de forma uniforme. Es considerado un proceso similar al de la pasteurización no térmica en frío, pero con la diferencia de que las propiedades del alimento se modifican menos que mediante los tratamientos tradicionales de conservación. Además se respetan las propiedades nutricionales, funcionales y organolépticas del producto fresco. Con presiones superiores a 400 MPa a temperaturas de refrigeración (entre 4° C y 10° C) o ambiente se consigue inactivar la flora vegetativa presente en los productos y aumentar así su seguridad y vida útil (Tokuşoğlu *et al.*, 2014).

A diferencia de los procesos térmicos y otras tecnologías de conservación, los efectos del HPP son uniformes y casi instantáneos a través del alimento. Esto ha facilitado el escalado de los resultados obtenidos en laboratorio a la producción comercial. La mayoría de los productos tratados por altas presiones y que ya están en el mercado, son productos de origen vegetal en forma de purés, zumos o similares al tipo de pulpas que pretenden ser desarrolladas en este trabajo, pero ninguno ha sido desarrollado sobre fruta cero residuos, de características organolépticas particulares y exigencias especiales a nivel de procesado.

3. OBJETIVOS

El objetivo global del presente Trabajo Fin de Grado es optimizar las diferentes etapas del proceso de obtención de un nuevo producto, pulpa de fruta de hueso cero residuos destinada a alimentación infantil, tratada mediante altas presiones. Para ello se plantean los siguientes objetivos técnicos:

1. Definir la formulación prototipo (contenido de pulpa, compuestos antioxidantes, agua y/o azúcar) que constituirá cada uno de los 3 tipos de pulpas a desarrollar.
2. Evaluar la influencia de las diferentes condiciones de tratamiento sobre las propiedades comerciales, nutricionales, reológicas y microbiológicas del producto final.
3. Definir el tratamiento de altas presiones más adecuado para la obtención de un producto sano, seguro y de características organolépticas apropiadas.
4. Estudiar la influencia del tiempo de conservación en refrigeración sobre las características del producto desarrollado, tanto desde un punto de vista de calidad comercial como de seguridad alimentaria.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Definición previa de la formulación a pequeña escala y diseño experimental

La definición de la formulación más adecuada para cada tipo de pulpa de fruta se incluye en este apartado de Material y Métodos por ser considerada una etapa previa a la optimización del procesado definitivo y estudio de vida útil, objetivos finales de este Trabajo de Fin de Grado. Hoy en día, las aplicaciones comerciales del tratamiento de altas presiones utilizan intervalos de presión comprendidos entre 400 y 600 MPa, que son capaces de inactivar microorganismos no esporulados y reducir significativamente la

actividad enzimática. Sin embargo, estas nuevas tecnologías, por sí mismas, son menos efectivas en cuanto a la inactivación microbiana y enzimática que las térmicas convencionales. Por ello, para extender su uso en la industria agroalimentaria, se pueden combinar con la aplicación de ingredientes naturales o aditivos utilizados habitualmente en la misma por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas o antipardeantes (Torres *et al*, 2016). Por este motivo, con el fin de llevar a cabo un diseño de proceso lo más similar posible al que podríamos encontrar a nivel industrial, se plantearon 3 tipos de formulaciones (A, B y C), que se indican en la Figura 1. En la formulación A no se añade ningún tipo de ingrediente, en la B únicamente se propone añadir ácido ascórbico como antioxidante y en la formulación C (azucarada) se adiciona tanto azúcar, como agua.

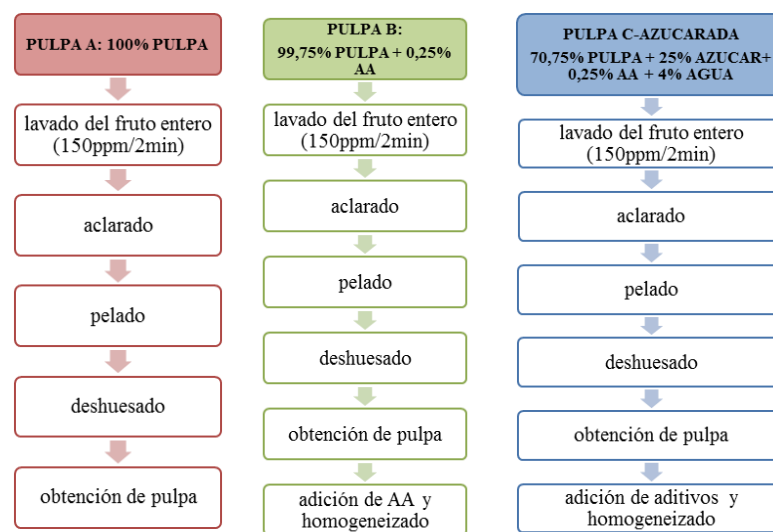


Figura 1. Ensayo preliminar de formulación para la selección de los ingredientes definitivos previo al posterior procesamiento definitivo de muestras y tratamiento de HPP.

Se realizaron pruebas de formulación y posterior análisis sensorial para establecer la proporción de aditivos adecuada y descartar o seleccionar la adición de determinados ingredientes. Estas pruebas preliminares fueron realizadas con los tres tipos de fruta de hueso ZR seleccionados (melocotón var. GC-58, nectarina var. 603 y paraguay var. Ufo). Se evaluó la influencia de la adición de agua, azúcar o ácido ascórbico en diferentes proporciones. Las etapas previas a la adición de los distintos ingredientes fueron idénticas para los 3 tipos de formulación ensayados. Estas etapas son comunes en cualquier proceso de obtención de pulpas o purés de fruta (Cámara *et al*, 2011; Pulpas-de-frutas.com, 2016) y consisten en una etapa de cloración inicial, posterior aclarado y pelado y deshuesado.

En las Tablas 1 y 2 se muestra la formulación definitiva para cada tipo de pulpa así como el diseño experimental planteado. En todos los casos se optó por la formulación C, denominada pulpa azucarada. La cantidad de agua y azúcar se ajustó para cada una de las

frutas en función de su contenido en °Brix (dependiente de la variedad y grado de madurez de la fruta) y sabor equilibrado. En todos los casos se añadió la misma concentración de ácido ascórbico (0,15%), un compuesto antioxidante incluido en la lista positiva de aditivos para este tipo de productos (R (UE) n° 1129/2011 de la Comisión, de 11 de noviembre de 2011) y comúnmente utilizado en la industria alimentaria.

Tabla 1. Plan experimental planteado para el diseño y optimización del proceso de obtención de pulpas de fruta ZR tratadas mediante altas presiones.

		<i>PULPA</i>	<i>AZÚCAR</i>	<i>ÁCIDO ASCÓRBICO</i>	<i>AGUA</i>
<i>MELOCOTÓN</i> var. GC-58	%	90	6	0,15	3,85
<i>NECTARINA</i> var. 603	%	88,85	7	0,15	4
<i>PARAGUAYO</i> var. Ufo	%	95,85	-	0.15	4

Tabla 2. Plan experimental planteado para el diseño y optimización del proceso de obtención de pulpas de fruta ZR tratadas mediante altas presiones.

FRUTA (variedad)	KG DE PRODUCTO FRESCO	CONDICIONES DE TRATAMIENTO	Nº ENVASES INDIVIDUALES	DÍAS DE ANÁLISIS DURANTE EL ESTUDIO DE VIDA ÚTIL	PARÁMETROS DE ANALIZADOS	DE CALIDAD
MELOCOTÓN var. GC-58	100 kg	600MPa/3min	30	0 días	-Estabilidad °Brix -pH -Conductividad -Consistencia -Estabilidad color (Abs_{420nm}) -Fenoles totales y flavonoides -Perfil de azúcares y ácidos orgánicos -Perfil olfatométrico -Análisis microbiológico -Reología -Actividad polifenoloxidasas	
		400MPa/3min	30	14 días		
		CONTROL	30	28 días		
NECTARINA var. 603	100 kg	600MPa/3min	30	0 días		
		400MPa/3min	30	14 días		
		CONTROL	30	28 días		
PARAGUAYO var. Ufo	100 kg	600MPa/3min	30	0 días		
		400MPa/3min	30	14 días		
		CONTROL	30	28 días		

En la siguiente figura se muestra un esquema de las diferentes partes del proceso de obtención de los 3 tipos de pulpas, optimizadas a nivel de planta piloto. El proceso completo fue realizado en la Planta Piloto del Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria (CNTA), donde se dispone del equipamiento adecuado para las etapas comunes, mesas de procesado y equipo de altas presiones.



Figura 2. Etapas del proceso de obtención de pulpas de fruta ZR tratadas por altas presiones (HPP): lavado, pelado automático, deshuesado, obtención de la pulpa, envasado y tratado por HPP.

En la siguiente figura se indica el diagrama de flujo definitivo aplicado durante el día de procesado para la obtención de las pulpas control y pulpas tratadas por altas presiones. Como lote control se consideró la pulpa sin ningún tipo de tratamiento de conservación y almacenada durante el mismo tiempo y condiciones que las pulpas tratadas por HPP.

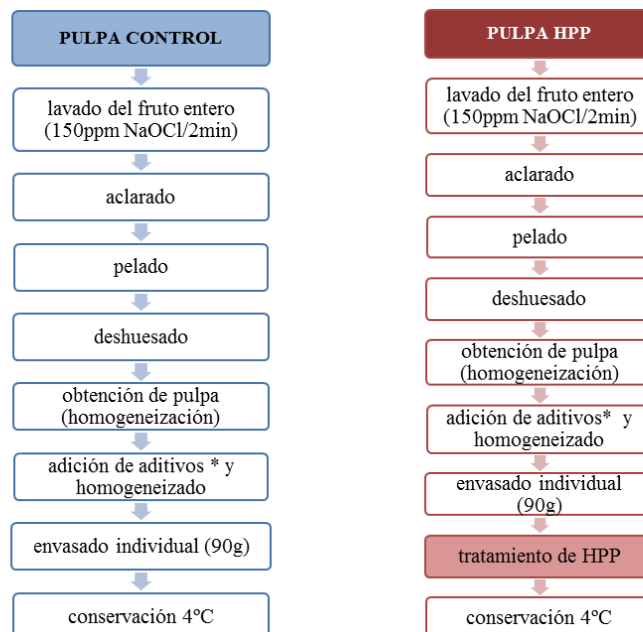


Figura 3. Diagrama de flujo diseñado para la obtención de pulpas de fruta ZR, tratadas por HPP.
*(Ver formulación Tabla 1)

4.2. Metodología utilizada en el análisis de los parámetros de calidad de las pulpas

A continuación, se describe la metodología empleada para el análisis de cada uno de los parámetros indicados en la tabla 2.

4.2.1. Parámetros físico-químicos:

- **°Brix:** Para la determinación se siguió la técnica descrita en los Métodos Oficiales de Análisis de Zumos de Frutas ([Orden 29 de enero, 1988](#)). Se determinaron por refractometría mediante un refractómetro digital, ATAGO DBX 55^a (ATAGO, Tokio, Japón). Se colocaron unas gotas de cada muestra en el refractómetro y se realizó la medición por duplicado de cada tipo de pulpa.
- **pH:** Se tomaron 100 mL por duplicado de cada muestra en vasos de precipitados. Se determinó utilizando un pH-metro Crison pH-Meter Basic 20+ (Crison, Barcelona, España) introduciendo el electrodo en la muestra directamente para la medida.
- **Conductividad eléctrica:** se utilizó un conductivímetro Crison conductimeter GLP 32 (Crison, Barcelona, España) introduciendo el electrodo en la muestra directamente para la medida.
- **Consistencia:** se determinó con un consistómetro Bostwick. Se llenó el compartimento con la muestra a analizar hasta la marca superior, a continuación se abrió la compuerta y se midió la distancia que recorre la pulpa en 30 segundos.
- **Pardeamiento (absorbancia a 420nm):** Para realizar el seguimiento del pardeamiento de las pulpas durante los 28 días de vida útil, se analizó la absorbancia a 420nm (Abs₄₂₀). Con el objeto de poder realizar todas las determinaciones, la medida de la absorbancia a 420 nm se realizó sobre una muestra diluida a 5 °Brix.

4.2.2. Parámetros nutricionales:

- **Fenoles totales y flavonoides:** La extracción de los compuestos fenólicos se llevó a cabo utilizando 1 g de cada tipo de pulpa y 5 mL de solución metanol:agua (80:20; v/v) y se mezcló con ultraturrax (IKA-W; Staufen, Alemania) durante 2 min y en frío, centrifugándose posteriormente a 4000 rpm durante 10 min a 4 °C. Se realizó una segunda extracción, se combinaron los sobrenadantes y se filtraron a través de un filtro de nylon de 45 µm. La

concentración de **compuestos fenólicos** fue determinada según el método descrito por [Singleton y Rossi \(1965\)](#) con algunas modificaciones. En matraces aforados de 10 mL, a 1 mL de extracto o de solución estándar de ácido gálico (0-250 mg/L) empleada como recta patrón se le añadió 1 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 5 min, se adicionó 1 mL de solución de carbonato de sodio al 7,5% y se enrasó con agua destilada. Tras 60 min de incubación a temperatura ambiente y en oscuridad, se determinó la absorbancia a 760 nm utilizando un espectrofotómetro (Unicam; Waltham, USA). El contenido en fenoles totales se expresó como mg de ácido gálico por 100 g de peso fresco, por considerarse el fenol principal de la mayoría de las frutas.

La curva patrón se obtuvo a partir de soluciones estándar de ácido gálico (0-250 mg/L) preparadas en matraces de 10 mL que fueron sometidas al mismo proceso que las muestras para determinar su absorbancia.

El contenido en **flavonoides** se determinó sobre el extracto obtenido para la determinación de los fenoles. Para llevar a cabo la cuantificación se modificó un ensayo colorimétrico descrito por [Iacopini et al. \(2010\)](#), a 0,5 mL de extracto se le añadieron 0,1 mL de NaNO₂ 5%. Transcurridos 5 min, se adicionaron 0,1 mL de AlCl₃ al 10% y transcurridos otros 6 min, se mezclaron con 0,6 mL de NaOH 1M y 1,7 mL de agua destilada. La recta de calibrado se realizó con diferentes concentraciones de catequina (0-100 mg catequina/L). Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 510 nm por espectrofotometría (Unicam). El contenido en flavonoides se expresó como mg de catequina en 100 g de pf o ps.

4.2.3. Parámetros microbiológicos:

- **Aerobios mesófilos totales:** Se analizaron las pulpas siguiendo la metodología propuesta en la norma [UNE-EN ISO 4833-1:2014](#), utilizando como medio de cultivo agar Plate Count Agar (PCA). Se inocularon en placas de Petri con la técnica de siembra en masa (1 ml en la placa y a continuación se añade el agar en estado líquido, alrededor de 50°C y se homogeniza), por duplicado, las diluciones de las muestras, desde la -1 hasta la -4. Posteriormente se llevaron a incubar a 30°C durante 72 horas. Al cabo de 72 horas se hizo un recuento de las colonias y se obtuvieron los resultados cuantitativos de aerobios mesófilos totales presentes en las muestras.

- **Mohos y levaduras:** para el recuento de mohos y levaduras se utilizó como medio de cultivo agar rosa bengala con cloranfenicol y diclorán siguiendo el procedimiento de la norma [ISO 21527-1:2008](#). Éste medio se vertió en placas de Petri, una vez solidificado y tras 24 horas, se inocularon mediante la técnica de siembra en superficie (0,1 ml en la superficie del agar homogenizando con asas de Drigalski), las diluciones de las muestras desde la -1 hasta la -3 incluida la muestra madre, es decir, la propia pulpa. Posteriormente se llevaron a incubar a 25°C durante 7 días. A los 7 días se hizo un recuento y se obtuvieron los resultados cuantitativos de mohos y levaduras presentes en las muestras. Para esta determinación se utilizaron, puntas estériles, pipeta de 100 µL y una estufa de 25°C.

4.2.4. Parámetros organolépticos:

- **Perfil de azúcares y ácidos orgánicos:** se ha analizado el perfil de azúcares y ácidos orgánicos mediante extracción previa y posterior identificación mediante cromatografía UPLC, determinándose el contenido de los azúcares sacarosa, glucosa, fructosa y sorbitol y los siguientes ácidos orgánicos: ac. oxálico, ac. quínico, D-málico, ac. shikímico, ac. maleico y ac. cítrico.
- **Caracterización del perfil de compuestos volátiles aromáticos:** Únicamente se llevó a cabo la caracterización del perfil aromático en aquellas muestras en las que se detectaron diferencias significativas tras el análisis sensorial llevado a cabo previamente. En primer lugar se realizó la extracción de volátiles por SPME. Para ello se saturaron 50 mL de zumo con NaCl (sal común) al 30 % para limitar la actividad enzimática y se congeló (-18 °C) hasta su análisis. Los compuestos volátiles de las pulpas fueron capturados en una fibra de SPME recubierta de una fase estacionaria de DVB/CX/PDMS. Se vertieron 8 mL de pulpa en un vial de vidrio de 20 mL y cierre de rosca. El vial se precalentó a 50 °C durante 20 minutos para favorecer la liberación de volátiles al espacio de cabeza. Seguidamente se expuso la fibra durante 90 minutos más a la misma temperatura. La mezcla se mantuvo en agitación constante a 250 rpm. Los volátiles retenidos en la fibra fueron finalmente desorbidos en el inyector del cromatógrafo ($T^a = 220$ °C) durante 5 minutos. Se utilizó un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard modelo 4890 provisto de un detector de ionización de llama (FID) y un puerto olfatométrico. Los compuestos fueron separados en una

columna DB-WAX (polietilenglicol) de dimensiones 30m x 0,32 mm y 0,5 μ m de espesor de fase. El programa del horno fue de 40 °C durante 5 min, seguido de una rampa de 5°C/min hasta llegar a los 220 °C, temperatura que se mantuvo durante 10 minutos.

Las olfatometrías fueron realizadas por dos jueces entrenados en la detección de aromas en fruta y derivados, miembros del grupo de investigación. Para cada zona de olor detectada, los jueces indicaron el tiempo al que era percibido, así como una descripción del aroma y estimación de intensidad en una escala de 1 (poco intenso) a 3 (muy intenso). Las zonas de olor fueron identificadas a partir de los índices de retención de los patrones puros (Sigma-Aldrich), extraídos por SPME e inyectados en condiciones idénticas a la muestra.

La **intensidad de las zonas odorantes** se cuantificó a partir de un parámetro que incluía el número de veces que el compuesto había sido detectado, así como las intensidades dadas por los jueces. De este modo, un valor de Intensidad 100, indica que el compuesto aromático ha sido detectado por los dos jueces, y con valores de intensidad 3 en ambos casos, es decir, el máximo posible. A partir de este parámetro es posible establecer una jerarquía de los compuestos aromáticos más importantes por muestra, así como establecer una comparativa entre los diferentes tipos de zumos analizados.

4.2.5. Parámetros reológicos:

Para el análisis reológico se utilizó un reómetro oscilatorio Physica MRC 301, Anton Paar Germany GMBH, con el software Rheoplus. Dada la naturaleza de las muestras a analizar se empleó la sonda CC17 (cilindros concéntricos), con capacidad para 6 ml. Se utilizó un sistema Peltier para controlar la temperatura, ajustando a 3°C, 7°C, 10°C, 25°C, 40°C y 60°C. Los parámetros que se analizaron fueron:

- **Curva de flujo:** Con el fin de conocer el comportamiento reológico de las muestras al aumentar la velocidad de deformación se programó un test con las siguientes características: una primera etapa de cizallamiento, en la que sometía a la muestra a una velocidad de deformación constante de 100 s^{-1} durante 120 segundos, con el fin de que el punto de partida de todas las muestras fuera más homogéneo. La segunda y la tercera etapa consistieron en una curva de subida

y bajada respectivamente, en la que la velocidad de deformación variaba de forma lineal de 2 a 200 s^{-1} durante 250 segundos, tomando 25 puntos, 1 punto cada 10 segundos, para la etapa de subida, y de 200 a 2 s^{-1} para la de bajada, en la que se tomaban los mismo puntos y con el mismo espacio de tiempo. A partir de las curvas de flujo se obtuvieron las curvas de viscosidad y los valores de viscosidad aparente a determinadas velocidades de deformación. Además se ajustaron los datos al modelo reológico de la ley de potencia con el fin de obtener las variables K y n, para lo cual generalmente se utilizó únicamente el tramo de subida. Los distintos lotes de zumos se analizaron por triplicado a cada una de las temperaturas indicadas anteriormente.

- **Umbral de Fluencia o yield stress:** Con el fin de comprobar si las muestras presentaban umbral de fluencia se optó por utilizar un método directo, mediante la realización de un test específico del que dispone en el software del equipo. Se variaba de manera creciente y lineal el esfuerzo tangencial al que se sometía la muestra, que iba desde 1 a 100 Pa, tomándose 120 puntos, un punto por segundo. Todo ello se realizó por triplicado para cada lote, y a cada una de las temperaturas de trabajo utilizadas.

4.2.6. Actividad polifenoloxidasas:

- **Actividad PPO:** la actividad del enzima polifenoloxidasas (PPO) se determinó por el método espectrofotométrico en el que se mide la velocidad a la que se genera el producto coloreado de la reacción. La actividad enzimática de PPO comercial de origen fúngico (Sigma-Aldrich; St. Louis, USA) se determinó midiendo el incremento de la absorbancia a lo largo del tiempo a una longitud de onda de 475 nm con un espectrofotómetro (Unicam) utilizando DL-DOPA (Sigma-Aldrich) como sustrato a diferentes concentraciones (0-2 mM). El ensayo fue llevado a cabo a 30 °C empleando un sistema Peltier. El enzima fue disuelto en solución tampón fosfato (0,05 M; pH 7,0) en una concentración de 10 $\mu g/mL$, que constituye lo que denominamos la solución enzimática. Se mezclaron 995 μL de sustrato disuelto en el mismo tampón y 5 μL de solución enzimática. La actividad de la PPO fue calculada como la pendiente en la parte lineal de la curva de actividad obtenida. Una unidad de actividad enzimática se definió como el incremento en la absorbancia de 0,1 unidades/min a 475 nm.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el análisis de los diferentes parámetros de calidad global de las pulpas realizados de forma periódica durante la conservación del producto en refrigeración y que nos han permitido seleccionar las óptimas condiciones del proceso.

5.1. Influencia del tratamiento de HPP en los parámetros físico-químicos.

En la Tabla 3 del Anexo se indica la evolución de los **parámetros físico-químicos** (pH, conductividad, °Brix y consistencia), desde el día inicial hasta el último día del estudio de vida útil (28 días en refrigeración), para los tres tipos de pulpas desarrolladas (melocotón var. GC-58, nectarina var. 603 y paraguay var. Ufo), en los dos tipos de tratamientos de HPP aplicados (400MPa/3min y 600MPa/3 min) y en la pulpa control, sin tratamiento de conservación.

Tabla 3. Evolución de los parámetros físico-químicos de **pulpa de melocotón, de nectarina y de paraguay** tratada con 2 niveles de presión (400MPa y 600MPa) y sin tratar (control), conservada durante 0, 14 o 28 días en refrigeración.

FRUTA (variedad)	CONDICIONES DE TRATAMIENTO	PARÁMETRO DE CALIDAD ANALIZADO	t0	t14	t28
MELOCOTÓN var. GC-58	Control	pH	3,3 ± 0,0	3,7 ± 0,0	3,7 ± 0,0
		Conductividad (mV)	207,5 ± 0,7	196,5 ± 0,7	202,0 ± 1,4
		°Brix	18,0 ± 0,1	18,4 ± 0,0	18,7 ± 0,10
		Consistencia	5,5 ± 0,01	8,5 ± 0,02	8,5 ± 0,02
	400 MPa/3min	pH	3,3 ± 0,1	3,6 ± 0,0	3,5 ± 0,0
		Conductividad (mV)	205,5 ± 3,5	201,0 ± 1,4	205,0 ± 1,4
		°Brix	17,9 ± 0,3	18,4 ± 0,1	18,7 ± 0,0
		Consistencia	4,5 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0
	600 MPa/3min	pH	3,3 ± 0,0	3,6 ± 0,0	3,55 ± 0,0
		Conductividad (mV)	203 ± 2,8	197,5 ± 0,7	202,5 ± 6,4
		°Brix	18,3 ± 0,0	18,4 ± 0,0	18,55 ± 0,1
		Consistencia	4,5 ± 0,0	6 ± 0,0	6 ± 0,0

Tabla 3 (cont). Evolución de los parámetros físico-químicos de *pulpa de melocotón, de nectarina y de paraguay* tratada con 2 niveles de presión (400MPa y 600MPa) y sin tratar (control), conservada durante 0, 14 o 28 días en refrigeración.

FRUTA (variedad)	CONDICIONES DE TRATAMIENTO	PARÁMETRO DE CALIDAD ANALIZADO	t0	t14	t28
NECTARINA var. 603	Control	pH	3,2 ± 0,07	3,7 ± 0,0	3,6 ± 0,0
		Conductividad (mV)	209 ± 4,2	193,5 ± 2,1	204 ± 0,0
		°Brix	21,6 ± 0,4	21,8 ± 0,1	22,2 ± 0,1
		Consistencia	5,5 ± 0,0	7,5 ± 0,0	7,5 ± 0,0
	400 MPa/3min	pH	3,1 ± 0,0	3,6 ± 0,1	3,6 ± 0,0
		Conductividad (mV)	214 ± 0,0	202 ± 2,8	205,5 ± 0,7
		°Brix	21,9 ± 0,0	21,8 ± 0,3	21,9 ± 0,1
		Consistencia	4,5 ± 0,0	4,5 ± 0,0	4,5 ± 0,0
	600 MPa/3min	pH	3,1 ± 0,0	3,5 ± 0,1	3,5 ± 0,0
		Conductividad (mV)	215 ± 1,4	204 ± 2,8	206,5 ± 2,1
		°Brix	21,3 ± 0,1	21,6 ± 0,1	21,9 ± 0,0
		Consistencia	4,5 ± 0,0	5,5 ± 0,0	4,5 ± 0,0
PARAGUAYO var. Ufo	Control	pH	4,3 ± 0,0	4,1 ± 0,1	4,0 ± 0,0
		Conductividad (mV)	148,5 ± 0,7	172 ± 2,8	179 ± 1,4
		°Brix	14,6 ± 0,0	14,9 ± 0,4	15,2 ± 0,0
		Consistencia (distancia de avance, mm)	5,5 ± 0,0	8 ± 0,0	7,5 ± 0,0
	400 MPa/3min	pH	4,2 ± 0,1	4,4 ± 0,0	4,3 ± 0,0
		Conductividad (mV)	156 ± 4,2	153 ± 1,4	162 ± 1,4
		°Brix	14,6 ± 0,1	14,8 ± 0,1	15 ± 0,1
		Consistencia (distancia de avance, mm)	4,5 ± 0,0	4,5 ± 0,0	4,5 ± 0,0
	600 MPa/3min	pH	4,1 ± 0,0	4,5 ± 0,0	4,4 ± 0,0
		Conductividad (mV)	162,5 ± 0,7	149,5 ± 0,7	160,5 ± 0,7
		°Brix	14,4 ± 0,0	14,8 ± 0,0	15 ± 0,0
		Consistencia (distancia de avance, mm)	4,5 ± 0,0	5,0 ± 0,0	4,5 ± 0,0

De todos los parámetros físico-químicos evaluados, el tratamiento de altas presiones tuvo su mayor influencia sobre la consistencia de las pulpas desarrolladas. En las tres frutas utilizadas, *las pulpas que no recibieron ningún tipo de tratamiento (control) mostraron un descenso significativo de su consistencia durante su vida útil*, aumentando su distancia de avance de un valor inicial en torno a 5 a un valor final de 7,5-8, a los 28 días. *Sin embargo, todas las pulpas tratadas por altas presiones mantuvieron su consistencia inicial hasta el último día del estudio de vida útil.*

Cuando se evalúa el efecto de las altas presiones sobre las reacciones enzimáticas, se deben considerar dos etapas: el enlace del enzima con el sustrato (con el complejo enzima-sustrato) y la etapa catalítica en la cual el complejo enzima-sustrato es activado. Si el sustrato es una biomolécula, la alta presión podría cambiar la conformación de la biomolécula o causar su disociación, lo que provocaría que el enzima no entre en contacto

con el sitio activo del sustrato impidiendo la reacción enzimática. En el caso de las pulpas control (sin tratamiento de HPP), las principales enzimas pécticas (PME y PG) se ponen en contacto con su sustrato (las sustancias pécticas) tras el procesado. Por este motivo, la consistencia del producto podría disminuir durante la conservación. Sin embargo, en el caso de las pulpas tratadas, el tratamiento de alta presión ha podido dar lugar a la solubilización de las sustancias pécticas (sustrato de la reacción) o incluso la inactivación de los enzimas, impidiendo de esta forma la acción de los enzimas sobre las pectinas (Hsu et al., 2008). Este comportamiento es observado en todos los puntos de análisis y en los 3 tipos de pulpas desarrolladas, que mostraron un comportamiento reológico diferente (estos resultados serán presentados en un apartado posterior).

Xu et al. (2015) estudiaron el efecto de los tratamientos de alta presión (500MPa, 10') y de pasteurización (90°C, 2') en un puré de banana que fue posteriormente conservado durante 30 días en refrigeración. Se observó que el tratamiento de HPP preservó la distribución del tamaño de las partículas y la viscosidad de los purés debido posiblemente al incremento de las interacciones entre las partículas pépticas, ya que la alta presión promueve dicha reacción, mientras en que los purés pasteurizados se incrementó el número de partículas más pequeñas y con ello la viscosidad de los mismos.

En el resto de parámetros físicoquímicos analizados (pH, °Brix, consistencia y conductividad) no hubo influencia significativa ni del tiempo de conservación ni del tipo de tratamiento aplicado. Sí que se observó un efecto significativo del tipo de fruta, principalmente en el pH y el contenido de sólidos solubles de las pulpas (independientemente del tipo de tratamiento), característicos de cada variedad y grado de madurez inicial.

5.2. Influencia del tratamiento de HPP en la susceptibilidad al pardeamiento (actividad PPO y evolución de la Abs_{420nm}).

Una de las principales alteraciones en este tipo de productos, junto con el desarrollo microbiológico, es el **pardeamiento enzimático**. Con el fin de comprobar la efectividad de los diferentes tratamientos de HPP sobre su inhibición, se determinaron diferentes parámetros relacionados con la alteración, como son el **incremento de la Abs a 420nm** y la actividad **polifenoloxidasa (PPO)**.

Durante el estudio de vida útil se comprobó un mayor aumento de la Abs_{420nm} (mayor pardeamiento) en las pulpas control. La diferencia entre el valor de la absorbancia de las pulpas control y el de las tratadas con altas presiones fue mayor en los primeros

días de vida útil, coincidiendo con una mayor inhibición de la actividad enzimática (ver Tabla 4 y Figura 4).

Tabla 4. Influencia del tiempo de conservación y tipo de tratamiento en la estabilidad del color de las pulpas, representada como Abs420nm en cada punto de análisis (0, 14 y 28 días en refrigeración).

FRUTA (variedad)	CONDICIONES DE TRATAMIENTO	Estabilidad del color (Abs420nm)		
		t0	t14	t28
MELOCOTÓN var. GC-58	Control	0,045	0,135	0,211
	400 MPa/3min	0,038	0,101	0,201
	600 MPa/3min	0,050	0,106	0,164
NECTARINA var. 603	Control	0,052	0,208	0,246
	400 MPa/3min	0,038	0,062	0,056
	600 MPa/3min	0,040	0,107	0,072
PARAGUAYO var. Ufo	Control	0,029	0,098	0,083
	400 MPa/3min	0,021	0,047	0,065
	600 MPa/3min	0,018	0,054	0,074

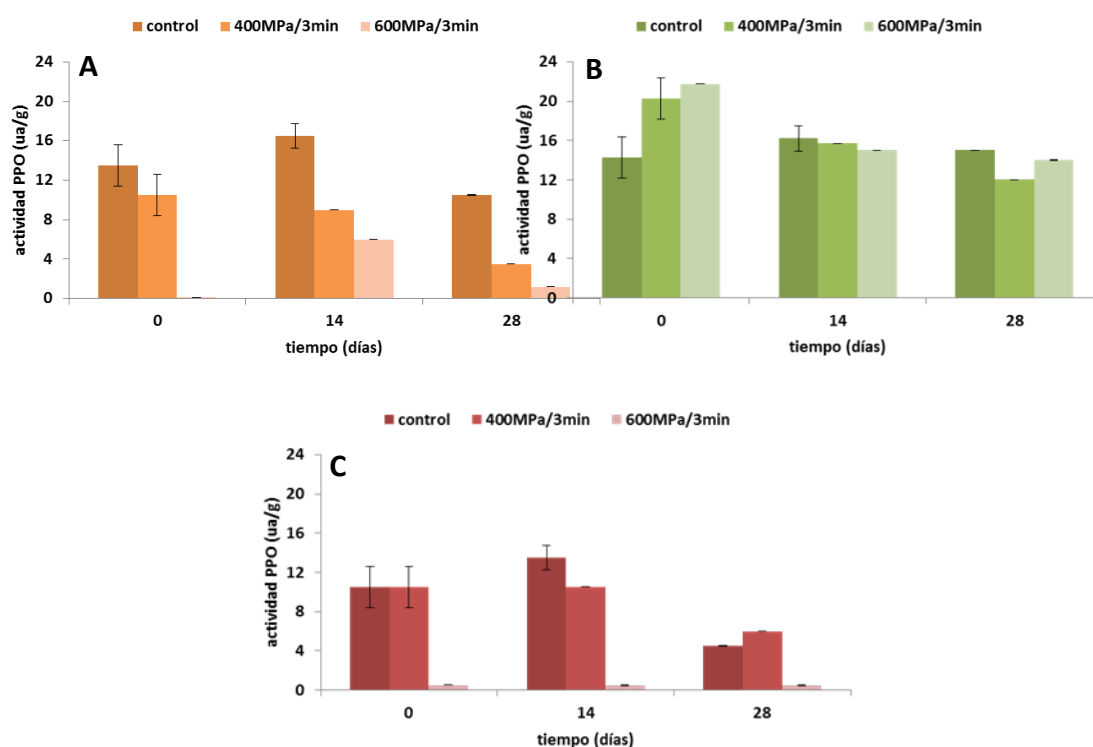


Figura 4. Influencia del tiempo de conservación en refrigeración y tipo de tratamiento (ninguno, 400MPa/3min, 600MPa/3min) en la actividad polifenoloxidasa (PPO), expresada como ua/g de pulpa (ua= incremento en la absorbancia de 0,1 unidades/min a 420nm). A: melocotón, B: paraguay, C: nectarina.

Tanto en melocotón como en nectarina se comprobó un efecto del tratamiento de altas presiones sobre la actividad PPO desde el primer día de conservación. *En el caso de la*

pulpa de nectarina, el tratamiento de HPP más intenso (en el que se aplica un nivel de presión de 600 MPa durante 3 minutos) **consiguió inhibir la reacción de pardeamiento hasta el final de la vida útil**, sin detectarse actividad PPO en ninguno de los puntos de análisis realizados. **En el caso de la pulpa de paraguay**, que a su vez fue la que presentó la actividad enzimática más elevada desde el inicio del estudio, **los tratamientos de HPP no resultaron tan efectivos** frente a la inhibición, comprobándose además en las escasas diferencias encontradas entre los valores de Abs_{420nm} de las pulpas control y los de las pulpas tratadas (0,083 vs. 0,065 y 0,074, control y 400MPa/3min; 600MPa/3 min, respectivamente).

Los estudios llevados a cabo sobre el efecto de las altas presiones en la actividad enzimática son numerosos y con resultados diversos. [Sulaiman et al. \(2013\)](#), describieron el porcentaje de inhibición de la PPO en puré de fresa después de 15 minutos de tratamiento a 600 MPa, siendo este de un 82% respecto a su actividad inicial. Sin embargo, otras publicaciones muestran que la PPO es más resistente a las altas presiones, que la POX (el otro enzima implicado en la reacción). Es el caso de los resultados obtenidos por [Terefe et al. \(2010\)](#), quienes aplicaron la tecnología de HPP en puré de 2 variedades de fresa consiguiendo porcentajes de inactivación de la PPO del 23% frente al 96% de inactivación de la POX, en el tratamiento más intenso utilizado: 90 °C; 690 MPa; 15 minutos. Trabajos realizados en extractos enzimáticos procedentes de piña ([Chakraborty et al., 2015](#)) obtienen niveles de inactivación enzimática del 96% y del 45% para el caso de la POX y de la PPO, respectivamente, en condiciones de 600 MPa, 70 °C y 20 minutos de tratamiento.

5.3. Influencia del tratamiento de HPP en las propiedades reológicas.

Además del efecto del tratamiento de altas presiones sobre la susceptibilidad al pardeamiento, se evaluó la influencia, tanto del tiempo de conservación como del tipo de tratamiento, sobre las **propiedades reológicas** del producto. Para ello se han analizado las **curvas de flujo** de cada una de las pulpas (melocotón, paraguay y nectarina) en las que se representa la velocidad de deformación frente a la viscosidad del producto.

Todas las pulpas fueron analizadas en cada punto de análisis mediante curvas de flujo, para conocer su comportamiento reológico frente a la velocidad de deformación. En la Figura 5 se muestran los resultados obtenidos en las curva de flujo de las pulpas de melocotón control, 400MPa y 600 MPa en el día inicial (A), a los 14 días de conservación

(B) y a los 28 (C). Como se puede observar, ***todas las muestras mostraron un comportamiento pseudoplástico, es decir, su viscosidad disminuyó con la velocidad de deformación.*** Otros estudios previos en mermeladas de fresa comerciales (producto similar) describieron un comportamiento similar (Gao *et al.*, 2011). Se detectaron diferencias significativas tanto en la velocidad de deformación como en la viscosidad de las pulpas tratadas, con respecto a las control. ***Las pulpas no tratadas experimentaron un descenso de su viscosidad y velocidad de deformación durante su vida útil, lo que estuvo relacionado con una menor consistencia ya descrita en la Tabla 3.***

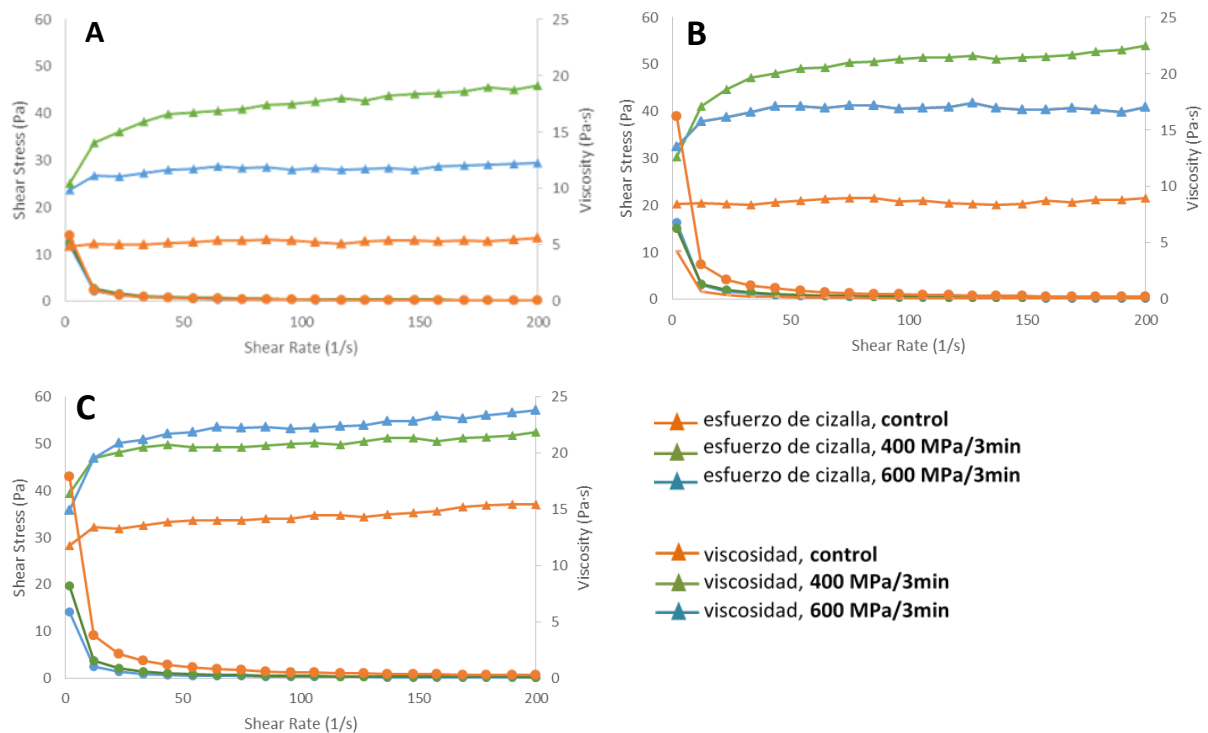


Figura 5. Curva de flujo de pulpas de melocotón control o tratadas mediante HPP (400MPa/3min, 600MPa/3min): influencia del tiempo de conservación en refrigeración (A: 0 días, B: 14 días y C: 28 días) y tipo de tratamiento (ninguno, 400MPa/3min, 600MPa/3min) en el esfuerzo de cizalla y viscosidad de las pulpas.

El comportamiento observado en las otras dos frutas fue similar: ***el tratamiento de altas presiones consiguió mantener en mayor medida la viscosidad, aumentando en todos los casos el esfuerzo de cizalla necesario para una velocidad de deformación determinada en las pulpas sometidas a HPP*** (ver Figuras 6 y 7, Anexo)

Además de las curvas de flujo, en las tablas 7, 8 y 9 del Anexo se muestran los datos de viscosidad de cada tipo de pulpa frente a la velocidad de deformación aplicada durante el ensayo en el reómetro. Se puede comprobar como ***en todos los casos, las pulpas tratadas mediante HPP mostraron una mayor viscosidad al ir aumentando la velocidad de deformación*** (1/s).

5.4. Influencia del tratamiento de HPP en los compuestos de interés nutricional.

Las frutas de hueso destacan por su elevado contenido en compuestos antioxidantes, siendo las sustancias fenólicas, incluidas las antocianinas y carotenoides, las principales responsables de sus propiedades antioxidantes (Cámara *et al.*, 2011). Según numerosas investigaciones, las altas presiones es uno de los procesos tecnológicos que menos afecta al valor nutricional y organoléptico de los productos vegetales procesados. El efecto de las altas presiones sobre la estabilidad de los compuestos nutricionales beneficiosos para la salud ha sido uno de los estudios que más interés ha suscitado entre los diferentes autores que evalúan este proceso en comparación a otros tratamientos más convencionales, como el tratamiento térmico Polydera *et al.* (2003).

En nuestro caso, analizamos la concentración de fenoles totales y flavonoides de los 9 tipos de pulpas en cada uno de los puntos de análisis, sin observar diferencias significativas entre las pulpas control y las tratadas por HPP. Tanto por su elevado contenido en fenoles totales, como por su concentración de flavonoides destacó la pulpa de melocotón frente a los otros dos tipos de pulpas (ver Figuras 8 y 9).

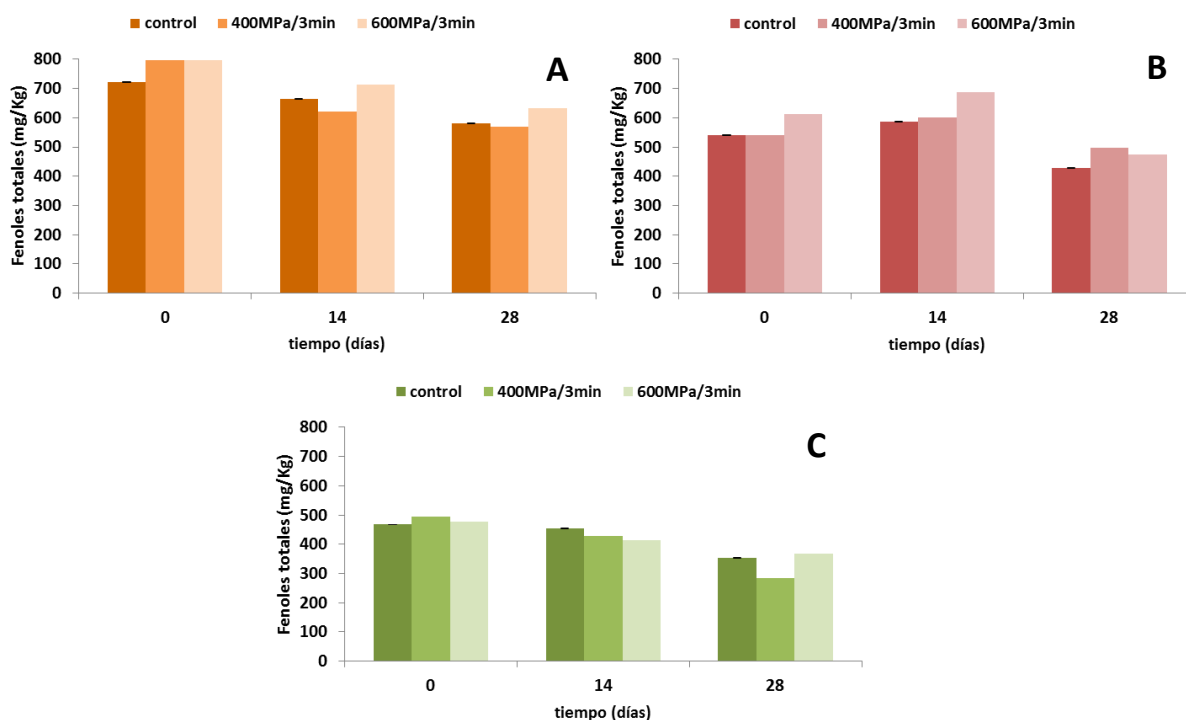


Figura 8. Influencia del tipo de tratamiento (control, 400MPa/3min, 600MPa/3min) y tiempo de conservación en la concentración de fenoles totales de pulpas de melocotón (A), nectarina (B) y paraguay (C), ZR.

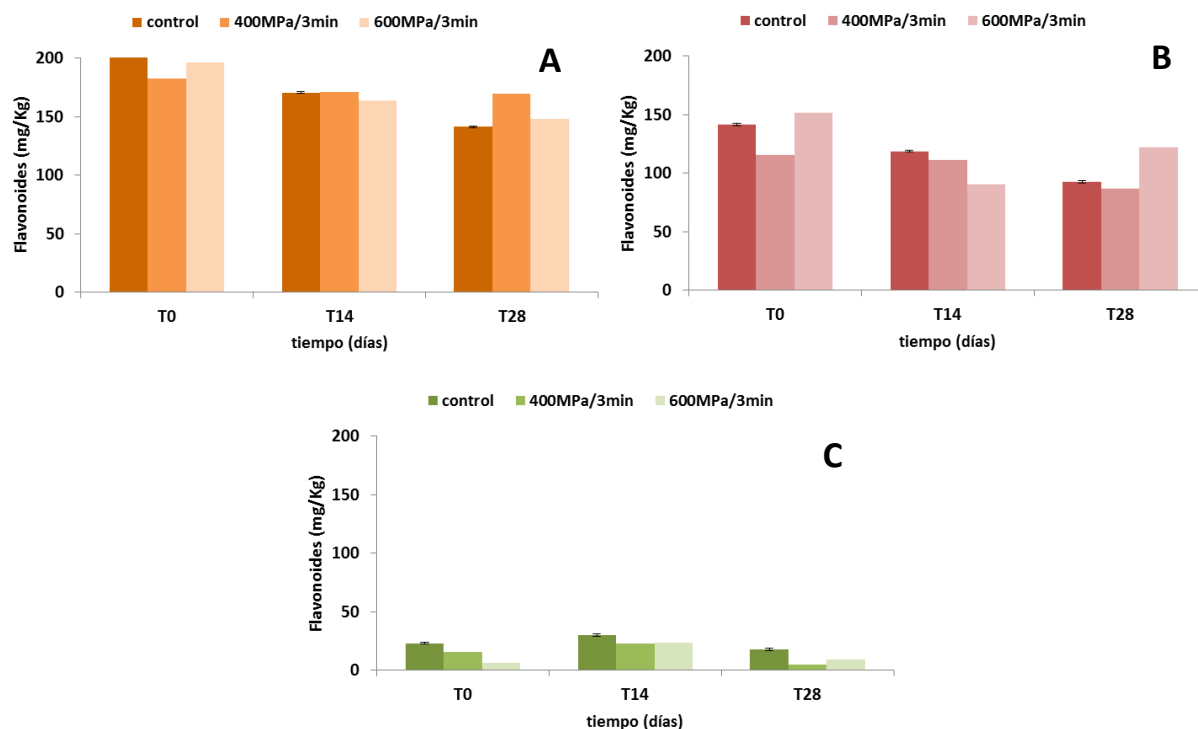


Figura 9. Influencia del tipo de tratamiento (control, 400MPa/3min, 600MPa/3min) y tiempo de conservación en la concentración de flavonoides de pulpas de melocotón (A), nectarina (B) y paraguayo (C), ZR.

5.5. Influencia del tratamiento de HPP en la calidad microbiológica.

El tratamiento térmico es el método tradicionalmente más utilizado para la conservación de los alimentos. Aunque esta tecnología es efectiva y económica, en muchos casos su aplicación ocasiona pérdidas importantes en la calidad de los alimentos, sobre todo cuando se utilizan temperaturas elevadas. Sin embargo, *el procesado por alta presión permite la inactivación de microorganismos patógenos y alterantes de alimentos con cambios mínimos en su textura, color y sabor* (Raso *et al.*, 2002; Torres y Velazquez, 2005; Barba *et al.*, 2012), aspecto especialmente importante en el caso de productos procesados de origen vegetal como es nuestro caso, con elevada susceptibilidad a los cambios de color, aromas y otros aspectos muy importantes e influyentes en la calidad comercial. Se ha comprobado que un tratamiento de HPP permite obtener cinco reducciones decimales en patógenos importantes para la conservación de los alimentos, incluyendo *Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Vibrio parahaemolyticus* (Bríñez, 2006).

Actualmente, los productos obtenidos por alta presión requieren conservación en refrigeración, actividad de agua reducida o bajos valores de pH para evitar la germinación de las esporas bacterianas. Numerosos estudios han demostrado que, en general, la **inactivación de microorganismos** vegetativos se da entre 400 y 600 MPa, mientras que las esporas de algunas especies son resistentes a presiones superiores a 1000 MPa a temperatura ambiente (Kaushik *et al.* (2013), Cao *et al.* (2012), Wang *et al.* (2012), Zhou *et al.* (2014). Además, la aplicación de altas presiones en productos con bajo pH (como es el caso de la nectarina y el melocotón), puede lograr una inactivación de formas vegetativas de microorganismos alterantes y patógenos (Patterson *et al.*, 2012). *En nuestro caso, comprobamos la influencia de un menor pH de las pulpas de nectarina y melocotón, en una mayor inactivación microbiana del tratamiento, consiguiendo una reducción de entre 2 y 3 unidades logarítmicas a 600 MPa* (ver Figura 10).

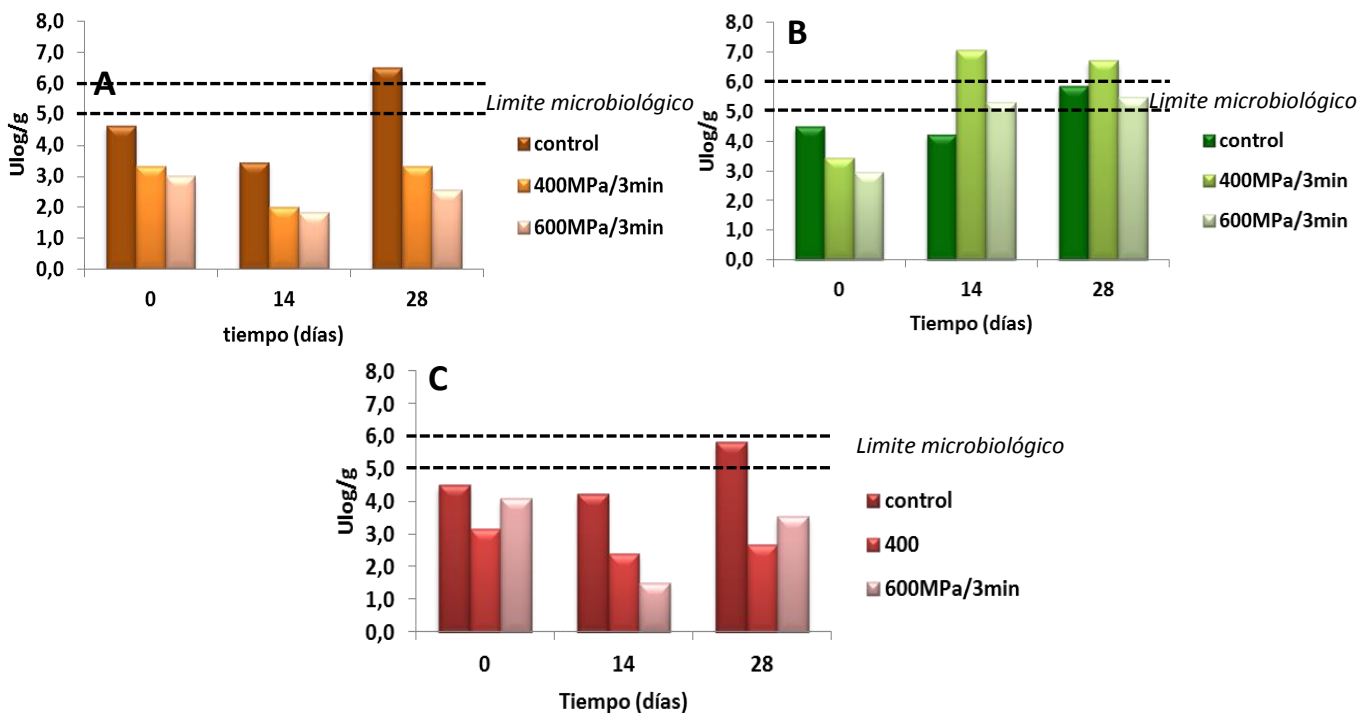


Figura 10. Influencia del tiempo de conservación en refrigeración y tipo de tratamiento (ninguno, 400MPa/3min, 600MPa/3min) en la **calidad microbiológica** (recuento de mesófilos totales), expresada como Ulog/g de pulpa (Ulog= unidades logarítmicas). **A:** melocotón, **B:** paraguayo, **C:** nectarina.

En la legislación vigente no se encuentra una reglamentación técnico-sanitaria para pulpas de fruta obtenida mediante HPP, y dentro de las reglamentaciones que determinan los límites microbiológicos en diversos alimentos no se establecen los límites en cuanto a aerobios mesófilos totales ni mohos y levaduras para zumos o productos similares, ni productos listos para consumo, ni envasados, sólo se encuentran alusiones para la

presencia o ausencia de *Salmonella* y *E.coli*. Si nos fijamos en la reglamentación relacionada con Alimentación infantil, únicamente se hace referencia a la presencia de determinadas toxinas (aflatoxina, ocratoxina, patulina, deoxinivalenol, zearalenona, fumonisina) y los únicos que están relacionados específicamente con alguna fruta es con manzana (límite de 10 ug/kg de patulina). Por este motivo, con el fin de evaluar la influencia del tratamiento de HPP en la calidad microbiológica de nuestro producto, se ha tomado como criterio el definido como límite microbiológico en el ya derogado [R.D. 3484/2000](#), en el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. En él se establece para los que denomina “Grupo A” (**comidas preparadas sin tratamiento térmico** y comidas preparadas con tratamiento térmico, que lleven ingredientes no sometidos a tratamiento térmico) un **recuento total de aerobios mesófilos: $n=5$ $c=2$ $m=10^5$ $M=10^6$** .

Teniendo en cuenta los criterios descritos en el párrafo anterior y analizando los resultados descritos en la figura 10, podemos concluir que *el tratamiento con HPP (tanto con 400 MPa como con 600 MPa) permite inhibir el crecimiento microbiano manteniendo el recuento de aerobios mesófilos por debajo de los criterios microbiológicos hasta al menos, 28 días en refrigeración, lo que supone prolongar la vida útil del producto más de un 50% (respecto al control, sin tratamiento de HPP).*

5.6. Influencia del tratamiento de HPP en la calidad organoléptica de las pulpas de fruta ZR conservadas en refrigeración

La retención de calidad en los productos tratados por HPP se debe a que las condiciones de presión-temperatura-tiempo requeridas para la conservación de los alimentos producen en ellos solo ligeros cambios químicos, y por lo tanto, sus propiedades sensoriales y nutricionales no son tan afectadas como con otro tipo de tratamientos ([Knorr et al., 2006](#)). Estudios realizados en Oregon State University han demostrado que los productos tratados por alta presión consiguen mantener las características tan similares a las de un producto fresco, que en función del producto a veces es imposible distinguirlos de las muestras control sin tratamiento ([Shellhammer et al., 2003](#)).

Son numerosas las investigaciones relacionadas con los cambios ocurridos durante la conservación de zumos o productos vegetales similares tratados con diferentes niveles de intensidad de presión. [Shellhammer et al. \(2003\)](#) examinaron los cambios químicos y sensoriales de zumo de manzana y zumo de naranja sin pulpa tratados por alta presión y

las determinaciones de color y niveles de antioxidantes, expresados como vitamina C, ORAC y FRAP, no mostraron diferencias significativas entre las muestras tratadas por alta presión y los controles. Estudios de evaluación sensorial utilizando la prueba triangular con 101 consumidores de zumo de manzana y 221 consumidores de zumo de naranja demostraron que las muestras tratadas por alta presión fueron indistinguibles del control.

Con el fin de comprobar el efecto del tratamiento de HPP sobre las características sensoriales de las pulpas de fruta ZR desarrolladas, se analizó el **perfil de ácidos orgánicos y azúcares** evaluando la concentración de los ácidos *oxálico, quínico, málico, shikímico, maleico y cítrico* y como azúcares, *sacarosa, glucosa, fructosa y sorbitol* (ver Tablas 10 y 11). Se comprobó una influencia significativa del tratamiento de HPP en el *perfil de ácidos orgánicos* de las pulpas de nectarina y melocotón, principalmente en uno de los dos ácidos mayoritarios de ambas frutas, el ácido D-málico. ***En el caso de las pulpas de melocotón y nectarina se observó un importante descenso en la concentración de este ácido (77%-98%, respectivamente) en las pulpas control tras 28 días de conservación, traducándose en una pérdida de acidez durante su almacenamiento.*** Sin embargo, las pulpas tratadas mantuvieron un perfil de ácidos similar al inicial, sin detectarse diferencias en la concentración de los ácidos orgánicos mayoritarios ni a los 14 ni a los 28 días de conservación. El paraguayo se caracterizó por presentar un perfil de ácidos menos complejo, mostrando una concentración de ácido málico mucho menor a la observada en los otros dos tipos de pulpa. En este caso, el efecto de las altas presiones en su perfil no fue tan notable.

No existen demasiadas investigaciones relacionadas con el efecto de las altas presiones en el perfil de ácidos orgánicos. [Zheng et al. \(2014\)](#) detectaron cambios significativos en el contenido de ácidos orgánicos en zumo de litchi tratado térmicamente (95 °C/1 min) y por presión (500 MPa / 2 min/ 25 °C). [Randhawa et al. \(2014\)](#) en su trabajo sobre zumos de cítricos observaron una disminución en el contenido de ácido cítrico y un incremento en el contenido de ácido málico durante todo el período de almacenamiento en refrigeración.

Tabla 10. Influencia del tiempo de conservación y tipo de tratamiento en el **perfil de ácidos orgánicos** de **pulpa de melocotón (A), nectarina (B) y paraguay (C)** (g ácido/kg pulpa fresca) en cada punto de análisis (0, 14 y 28 días en refrigeración).

A. PULPA MELOCOTÓN var. GC-58	0 días/4°C			14 días/4°C			28 días/4°C		
	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min
ac. oxálico (g/kg pulpa)	0,132 ± 0,005	0,131 ± 0,003	0,128 ± 0,005	0,135 ± 0,002	0,138 ± 0,004	0,135 ± 0,001	0,135 ± 0,004	0,156 ± 0,010	0,153 ± 0,004
ac. quínico (g/kg pulpa)	1,950 ± 0,119	1,848 ± 0,003	1,905 ± 0,206	1,792 ± 0,103	1,815 ± 0,067	1,729 ± 0,012	1,679 ± 0,114	1,982 ± 0,046	1,630 ± 0,012
D-málico(g/kg pulpa)	0,642 ± 0,090	0,828 ± 0,005	0,951 ± 0,065	0,682 ± 0,060	0,781 ± 0,111	0,762 ± 0,017	0,144 ± 0,026	0,879 ± 0,121	0,843 ± 0,073
ac. shikímico (g/kg pulpa)	0,005 ± 0,001	0,005 ± 0,000	0,005 ± 0,000	0,004 ± 0,000	0,005 ± 0,000	0,004 ± 0,000	0,003 ± 0,000	0,005 ± 0,001	0,005 ± 0,001
ac. maleico (g/kg pulpa)	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,005 ± 0,008	0,005 ± 0,007	0,006 ± 0,008	0,005 ± 0,007	0,006 ± 0,009	0,005 ± 0,007
ac. cítrico (g/kg pulpa)	0,009 ± 0,012	0,004 ± 0,005	0,008 ± 0,011	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
B. PULPA NECTARINA var. 603	0 días/4°C			14 días/4°C			28 días/4°C		
	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min
ac. oxálico (g/kg pulpa)	0,152 ± 0,007	0,161 ± 0,003	0,162 ± 0,005	0,137 ± 0,005	0,166 ± 0,005	0,167 ± 0,005	0,142 ± 0,006	0,181 ± 0,001	0,183 ± 0,000
ac. quínico (g/kg pulpa)	1,990 ± 0,048	2,094 ± 0,013	0,960 ± 0,094	2,054 ± 0,029	1,926 ± 0,041	0,965 ± 0,028	2,008 ± 0,001	1,821 ± 0,098	1,739 ± 0,042
D-málico(g/kg pulpa)	1,725 ± 0,305	2,332 ± 0,000	2,432 ± 0,009	0,022 ± 0,000	2,090 ± 0,092	2,086 ± 0,038	0,023 ± 0,000	2,180 ± 0,092	2,116 ± 0,050
ac. shikímico (g/kg pulpa)	0,004 ± 0,001	0,005 ± 0,000	0,005 ± 0,000	0,004 ± 0,000	0,006 ± 0,000	0,006 ± 0,001	0,004 ± 0,000	0,007 ± 0,001	0,007 ± 0,000
ac. maleico (g/kg pulpa)	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,006 ± 0,008	0,006 ± 0,009	0,006 ± 0,009	0,006 ± 0,009	0,006 ± 0,009	0,007 ± 0,009
ac. cítrico (g/kg pulpa)	0,012 ± 0,017	0,018 ± 0,025	0,041 ± 0,058	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
C. PULPA PARAGUAYO var. Ufo	0 días/4°C			14 días/4°C			28 días/4°C		
	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min
ac. oxálico (g/kg pulpa)	0,179 ± 0,001	0,187 ± 0,009	0,180 ± 0,007	0,198 ± 0,005	0,198 ± 0,013	0,202 ± 0,011	0,199 ± 0,002	0,196 ± 0,003	0,192 ± 0,001
ac. quínico (g/kg pulpa)	1,046 ± 0,076	1,305 ± 0,090	1,066 ± 0,399	1,127 ± 0,005	1,213 ± 0,102	1,213 ± 0,072	1,194 ± 0,058	1,154 ± 0,182	1,982 ± 0,010
D-málico(g/kg pulpa)	0,020 ± 0,002	0,022 ± 0,008	0,024 ± 0,013	0,000	0,021 ± 0,002	0,018 ± 0,003	0,024 ± 0,000	0,013 ± 0,002	0,002 ± 0,000
ac. shikímico (g/kg pulpa)	0,015 ± 0,001	0,024 ± 0,002	0,018 ± 0,002	0,013 ± 0,001	0,025 ± 0,003	0,028 ± 0,000	0,011 ± 0,001	0,024 ± 0,002	0,026 ± 0,000
ac. maleico (g/kg pulpa)	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000
ac. cítrico (g/kg pulpa)	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000

Tabla 11. Influencia del tiempo de conservación y tipo de tratamiento en el *perfil de azúcares* de pulpa de melocotón (A), nectarina (B) y paraguay (C) (g azúcar/kg pulpa fresca) en cada punto de análisis (0, 14 y 28 días en refrigeración).

A. PULPA MELOCOTÓN var. GC-58	0 días/4°C			14 días/4°C			28 días/4°C		
	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min
sacarosa (g/kg pulpa)	111,090±0,462	110,245±0,602	109,488±0,677	97,301±2,055	96,917±1,995	97,966±0,787	93,105±0,863	88,259±0,086	87,402±1,007
glucosa (g/kg pulpa)	15,308±0,179	15,294±0,013	15,278±0,138	21,089±0,182	21,532±0,300	21,682±0,057	25,269±0,166	27,607±0,051	27,240±0,405
fructosa (g/kg pulpa)	18,720±0,153	18,811±0,017	18,599±0,112	24,690±0,450	25,320±0,272	25,306±0,183	28,696±0,074	31,265±0,094	30,803±0,356
sorbitol (g/kg pulpa)	8,215±0,006	8,148±0,056	8,148±0,035	8,319±0,106	8,313±0,099	8,329±0,013	8,418±0,005	8,362±0,029	8,220±0,114

B. PULPA NECTARINA var. 603	0 días/4°C			14 días/4°C			28 días/4°C		
	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min
sacarosa (g/kg pulpa)	126,499±0,720	125,162±1,128	125,495±0,781	117,742±1,396	113,336±1,700	140,948±2,755	104,736±2,632	106,869±0,173	106,717±0,102
glucosa (g/kg pulpa)	19,878±0,562	18,986±0,016	18,835±0,257	25,293±0,323	23,387±0,709	25,478±2,877	29,596±0,402	29,679±0,272	28,630±0,263
fructosa (g/kg pulpa)	22,849±0,014	22,277±0,005	22,425±0,231	28,928±0,011	27,296±0,755	29,510±3,101	33,267±0,398	33,342±0,435	32,367±0,108
sorbitol (g/kg pulpa)	12,613±0,015	12,372±0,032	12,607±0,001	12,642±0,008	13,046±0,530	13,615±1,230	12,441±0,201	12,891±0,045	12,746±0,124

C. PULPA PARAGUAYO var. Ufo	0 días/4°C			14 días/4°C			28 días/4°C		
	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min
sacarosa (g/kg pulpa)	76,614±1,100	86,310±1,799	86,196±2,646	19,892±1,438	63,824±1,729	65,383±1,285	9,036±0,265	48,443±0,526	51,842±0,799
glucosa (g/kg pulpa)	12,148±0,024	12,038±0,354	12,261±0,269	25,260±0,439	21,530±0,050	21,393±0,354	30,734±1,652	27,110±0,274	28,780±0,022
fructosa (g/kg pulpa)	18,412±0,113	16,687±0,693	16,268±0,376	35,489±1,125	25,685±0,093	25,747±0,416	37,540±0,022	31,321±0,314	32,935±0,000
sorbitol (g/kg pulpa)	6,348±0,058	7,020±0,170	6,902±0,215	6,574±0,014	6,777±0,072	6,847±0,102	7,766±0,140	6,516±0,035	6,846±0,100

En el caso del perfil de azúcares, que junto al contenido de ácidos orgánicos, contribuye en mayor o menor medida al sabor más o menos equilibrado del producto, también se comprobó un ***efecto positivo del tratamiento de altas presiones en el mantenimiento del sabor durante la conservación***. En este caso, se comprobó como, por ejemplo ***en las pulpas de paraguay ZR, tuvo lugar una mayor hidrólisis de la sacarosa transformándose en fructosa y glucosa en las muestras control, lo que se tradujo en un menor sabor dulce de las pulpas y pérdida del sabor característico***. Se observó una pérdida de casi el 90% de la concentración de sacarosa en las pulpas control (tras 28 días de conservación), frente a una disminución del 40% en el caso de las pulpas tratadas por HPP (Tabla 11 y cromatograma en la Figura 11 del Anexo). Resultados similares han sido observados por otros autores. [Fernández-García et al. \(2001\)](#) en un zumo de naranja, limón y zanahoria tratado a 500MPa/5 min después de 21 días de almacenamiento a 4°C tampoco hallaron cambios significativos en la glucosa, fructosa y sacarosa. Estos resultados coinciden con los de [Vervoot et al. \(2011\)](#) en zumo de naranja y [Barba et al. \(2012\)](#) en otros vegetales, como zumos de arándano, uva, naranja, manzana, zanahoria y tomate.

Además de evaluar el beneficio de la aplicación de las altas presiones en el mantenimiento del sabor característico (equilibrio azúcar/ácido), se analizó su efecto sobre el perfil aromático. Para ello se realizó el ***análisis de los compuestos volátiles odorantes con relevancia en el aroma de las pulpas***. Dado que el monitoreo por análisis olfatométrico se realiza en muestras que “a priori” pueden diferir entre ellas, y en base a los resultados físico-químicos preliminares, se realizó una selección de muestras de pulpas en las que monitorizar la presencia de volátiles aromáticos, realizándose el análisis sobre las pulpas control del día inicial y las pulpas tratadas a 600MPa y conservadas durante 28 días en refrigeración. En las Tablas 12-14 se muestran los resultados obtenidos. Se incluyen el descriptor aromático, su identidad química, el tiempo al que compuesto es eluido de la columna cromatográfica (Tr) y la puntuación olfatométrica que éste compuesto obtiene en la muestra control (día inicial) y en la muestra tratada a 600MPa y posteriormente conservada durante 28 días (o 14, en el caso del paraguay) en refrigeración. Los compuestos que obtuvieron una puntuación inferior al 30% no se incluyeron en esta lista (umbral ruido).

Tabla 12. Influencia del tiempo de conservación (0 y 28 días) y tipo de tratamiento en el **perfil aromático** de pulpa de melocotón.

Descriptor	IDENTIFICACIÓN	Tr	M_C_T0	M_600_T28
crema	2,3-butanodiona	8,18	58	65
césped	Hexanal	11,57	91	79
césped	Z-3-hexenal	14,02	74	68
pescado	Z-4-heptenal	17,39	ni	46
champiñón	1-octen-3-ona	19,43	89	98
geranio	Z-1,5-octadien-3-ona	22,04	100	84
césped	ni	22,35	38	71
rosas	Fenilacetato de etilo	31,57	54	ni
dulzón-menta	ni	33,24	82	61
g-lactona	Melocotón seco	43,08	35	26

Tabla 13. Influencia del tiempo de conservación (0 y 28 días) y tipo de tratamiento en el **perfil aromático** de pulpa de nectarina.

Descriptor	IDENTIFICACIÓN	Tr	N_C_T0	N_600_T28
crema-nata	2,3-butanodiona	8,11	82	68
verde, hasta 14,08	Z-3-hexenal	13,58	61	74
césped	E-2-hexenal	16,54	25	82
champiñón	1-octen-3-ona	19,34	89	87
geranio	Z-1,5-octadien-3-ona	21,59	98	79
césped	ni	27,56	nd	58

Tabla 14. Influencia del tiempo de conservación (0 y 28 días) y tipo de tratamiento en el **perfil aromático** de pulpa de paraguay.

Descriptor	IDENTIFICACIÓN	Tr	P_CT0	P_600_T14
nata crema	2,3-butanodiona	8,14	87	76
césped	ni	11,07	68	nd
verde	Hexanal	11,54	46	71
césped	Z-3-hexenal	14,07	41	65
pescado	Z-4-heptenal	17,34	79	43
champiñón	1-octen-3-ona	19,31	91	94
tostado	2-acetil-1-pirrolina	20,43	74	nd
geranio resina	Z-1,5-octadien-3-ona	21,56	96	84
patata cocida	Metional	24,33	68	82
verde-pepino	E-2,Z-6-nonadienal	29,14	58	nd
menta hierbabuena	ni	33,16	71	76

A continuación se comentan los resultados más destacados en base a tres criterios:

A) Compuestos comunes a las tres frutas de hueso (muestra control): Existen cuatro de odorantes que se percibieron en las muestras control de las tres frutas analizadas, lo que indica que se trata de *moléculas elementales* que conforman el aroma de los mismos. Se trata de *2,3-butanodiona*, *Z-3-hexenal*, *1-octen-3-ona*, *Z-1,5-octadien-3-ona*. Tres de éstas pertenecen a la familia química de las cetonas, y presentan

aromas muy potentes de naturaleza muy diversa: nata, champiñón y geranio. Además, destaca el Z-3-hexenal, aldehído de fuerte aroma a césped.

B) Compuestos que difieren entre frutas de hueso (en muestra control): algunos compuestos fueron detectados únicamente en alguna/s de la/s frutas: hexanal (en melocotón y paraguayo), E-2-hexenal (en nectarina), 2-acetil-1-pirrolina (en paraguayo), metional (en paraguayo) E,Z-2,6-nonadienal (en paraguayo), fenilacetato de etilo (en paraguayo) y g-lactona (en melocotón). Estos resultados muestran claramente que el *paraguayo presentó un perfil aromático algo más complejo que el melocotón, y mucho más que la nectarina, tanto por el número como por la naturaleza química de las diversas moléculas detectadas.*

C) Influencia del tratamiento HHP y tiempo de conservación en el perfil de composición: la muestra control de melocotón difería de la muestra tratada por la ausencia de Z-4-heptenal (pescado) y la presencia de fenilacetato de etilo (floral). La combinación de ambas circunstancias puede influir en el aroma final del producto, dadas las connotaciones negativa y positiva, respectivamente, de ambos compuestos. En el caso de la nectarina, al poseer el perfil olfatométrico menos complejo, la fue la fruta menos influenciada por el tiempo de conservación. El perfil del paraguayo mostró dos características únicas, que no fueron observadas en el resto de frutos. En él se percibieron claramente 2-acetilpirrolina (tostado-palomitas) y E,Z-2,6-nonadienal (pepino), con intensidades olfatométricas 2-acetilpirrolina y E,2-Z,6-nonadienal, 74 y 58, respectivamente. Ninguno de estos componentes fue percibido en las muestras tratadas por altas presiones, lo que sugiere que son altamente sensibles a este tratamiento.

Además de poder estudiar la influencia del tratamiento de HPP en el perfil aromático característico de las pulpas, el análisis olfatométrico ha permitido establecer una jerarquía de los compuestos más importantes desde un punto de vista odorante, y con potencial real para influir en el aroma final del fruto bajo estudio. En este sentido, las *pulpas de paraguayo* mostraron el *perfil aromático más complejo* de las tres frutas ZR utilizadas, tanto por el número como por la naturaleza química y aromática de los odorantes, lo que hace que sea un *ingrediente muy prometedor para nuevas formulaciones de pulpa y/o productos de este tipo.*

6. CONCLUSIONES

En el presente Trabajo de Fin de Grado se han definido las condiciones de procesado más eficaces para la obtención de 3 prototipos de pulpas de fruta de hueso ZR, para posteriormente ser aplicadas a nivel industrial. Durante los estudios de vida útil se han obtenido las siguientes conclusiones:

- De todos los parámetros físico-químicos evaluados, el tratamiento de altas presiones tuvo su mayor influencia sobre la consistencia de las pulpas. En las pulpas control, se observó un descenso significativo de la consistencia. Sin embargo, ***el tratamiento de altas presiones permitió evitar esa pérdida de consistencia, manteniendo valores similares a los de la pulpa en estado fresco durante los 28 días.***
- Las pulpas que no recibieron tratamiento de altas presiones mostraron mayor pardeamiento. La diferencia, en el valor de Abs_{420nm}, entre las pulpas tratadas por HPP y las no tratadas, fue mayor en los primeros días de conservación, coincidiendo con una mayor inhibición de la actividad de la polifenoloxidasas.
- Tanto en las pulpas de melocotón como en las de nectarina se comprobó un efecto del tratamiento de altas presiones sobre la actividad PPO. ***En el caso de la pulpa de melocotón, el tratamiento de 600 MPa/3 minutos consiguió inhibir la reacción de pardeamiento hasta el final de la vida útil. En el caso de la pulpa de paraguay, con una mayor actividad PPO, los tratamientos de HPP no resultaron tan efectivos.***
- ***Todos los tipos de pulpa mostraron un comportamiento pseudoplástico.*** Sin embargo, sí que se detectaron diferencias significativas tanto en la velocidad de deformación como en la viscosidad de las pulpas tratadas, con respecto a las control. ***El tratamiento de altas presiones permitió mantener la viscosidad y propiedades reológicas características de la pulpa en estado fresco.***
- El efecto combinado de un menor pH en las pulpas de nectarina y melocotón junto con la aplicación del tratamiento de altas presiones permitió aumentar la capacidad de inactivación microbiana. ***El tratamiento de altas presiones a 600 MPa consiguió una reducción de entre 2 y 3 unidades logarítmicas, lo que permitió prolongar la vida útil hasta, al menos, 28 días en refrigeración.*** En el caso de la pulpa de paraguay (con mayor pH) será necesario combinar el tratamiento de HPP con la adición, en pequeña cantidad, de un acidulante comercial.

- ***El tratamiento de HPP permitió conservar el perfil de azúcares y ácidos característico de las pulpas en estado fresco***, manteniendo de esta forma el sabor original del producto.
- ***El tratamiento de altas presiones puede considerarse una tecnología muy adecuada para mantener las propiedades globales de aroma en las pulpas de fruta de hueso ZR durante toda su vida útil***, aportando al producto características diferenciales con respecto a otros productos más tradicionales (potitos comerciales).
- Las pulpas de paraguayo presentaron un perfil aromático algo más complejo que las de melocotón, y mucho más que la nectarina, tanto por el número como por la naturaleza química de las diversas moléculas detectadas, lo que nos lleva a proponerlo como un ingrediente de gran interés ***para nuevas formulaciones de pulpa y/o productos de este tipo***.
- Aunque con ambos tratamientos (400Mpa o 600MPa) se consiguió obtener un producto seguro (análisis microbiológico por debajo de los límites establecidos), se ha seleccionado el nivel de presión más elevado (600MPa) por su mayor inactivación de la actividad polifenoloxidasas.

CONCLUSIONS

In the present Work the most effective conditions of processing have been defined for the obtaining of 3 prototypes of pulps of bone fruit ZR, later to be applied at an industrial level. During the studies of useful life carried out the following conclusions have been obtained:

- Of all the physical – chemical parameters evaluated, the treatment of high pressure had his greatest influence on the consistency of the pulps. In control pulps, a significant decrease of the consistency was observed during the conservation. Nevertheless, ***high pressure treatment allowed to avoid such loss of consistency until the last day of useful life, supporting values similar to those of the pulps in fresh condition***.
- The pulps that did not receive high pressures treatment showed greater browning. The difference, in the value of Abs420nm, between the pulps treated by HPP and the not treated ones, was higher in the first days of conservation, coinciding with a greater inhibition of the activity of the polyphenol oxidase.

- So much in the pulps of peach since in those of nectarine there was verified an effect of the treatment of high pressure on the PPO activity. ***In case of the pulp of peach, the treatment of 600 MPa/3 minutes managed to disable the reaction of browning until the end of the useful life***, without enzymatical activity be detecting in any of the points of analyses realized. ***In case of the flesh of flat peach***, who in turn was the one that presented the highest PPO activity from the beginning of the study, ***HPP's treatments did not turn out to be so effective opposite to the inhibition***.
- ***All the types of pulps showed a pseudoplastic behavior***. However, yes that detected significant differences to themselves both in the speed of deformation and in the viscosity of the treated pulps, with regard to the control. ***The treatment of high pressure it allowed to support the viscosity and rheological properties typical of the pulp in fresh condition***.
- The combined effect of a lower pH in the pulps of nectarine and peach together with the application of the treatment of high pressure allowed to increase the capacity of microbial inactivation. ***High pressure treatment at 600 MPa achieved a reduction of between 2 and 3 logarithmic units, which allowed to prolong the useful life until, at least, 28 days in refrigeration***. In case of the pulp of flat peach it will be necessary to combine HPP's treatment with the addition, in small quantity, of a commercial acidifier.
- ***HPP's treatment allowed to support, during 28 days of useful life, a profile of sugars and organic acids similar to the showed one for the pulps in fresh condition*** (in comparison with the control pulps).
- The aromatic global profile of the treated samples is kept with regard to the initial in relation to the most relevant compounds, aldehydes and ketones. Therefore, ***the treatment of high pressure a technology can be considered to be very adapted to support the global properties of aroma in the pulps of ZR bone fruit during all its useful life***, contributing to the product differential characteristics with regard to other more traditional products (commercial jars of baby food).
- The pulps of flat peach presented an aromatic profile slightly more complex than those of peach, and much more than the nectarine, both for the number and for the chemical nature of diverse detected molecules, which leads to us to proposing it as an ingredient of great interest ***for new formulations of pulp and / or products of this type***.

- Though with both treatments (400MPa or 600MPa) was able to obtain a safe product, the 600MPa treatment has been selected due to the fact that it is with that there is obtained a greater inactivation of the polyphenol oxidase.

7. APORTACIONES EN MATERIA DE APRENDIZAJE

La realización de este Trabajo Fin de Grado tanto en el Laboratorio de Alimentos de Origen Vegetal de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, así como en el Parque Científico Tecnológico Aula Dei (PCTAD) y en el Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria (CNTA) me ha permitido, en primer lugar, conocer los aspectos globales que implica la gestión y el control de la calidad integral de productos en el ámbito alimentario, desde el análisis de la materia prima, pasando por el procesado, estudios de vida útil y análisis de calidad del producto final, entre otros, y me ha proporcionado una mayor destreza a la hora de aplicar determinados análisis físico-químicos, organolépticos, nutricionales y/o microbiológicos que se aplican de manera rutinaria en la Industria Agroalimentaria, y en el uso de los equipos, puesto que no siempre es posible familiarizarse con estos cuando se realizan las prácticas en el laboratorio a lo largo del Grado de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

Asimismo, me ha proporcionado una serie de destrezas y herramientas de trabajo entre las que se encuentran las siguientes:

- Habilidad para llevar a cabo la realización y planificación de una propuesta científica que después se fuese a llevar a cabo. Inicialmente tuve una primera entrevista con mis tutoras para fijar los objetivos que se querían conseguir con este trabajo y así poder diseñar un plan de trabajo que se adecuase a estos y a mis propios intereses e inquietudes de aprendizaje.
- Desarrollo de una mayor capacidad de organización y planificación, elaborando un calendario que fuese compatible con las horas teóricas y prácticas del grado para poder realizar los análisis correspondientes en el momento oportuno en cada uno de los laboratorios en los que se ha desarrollado el presente trabajo.
- Aplicación de los conocimientos teórico-prácticos adquiridos durante el Grado, los cuales he podido reforzar al aplicarlos a una situación experimental real y averiguar de primera mano qué fuentes bibliográficas eran más efectivas en la puesta en práctica de mi trabajo.

- Capacidad de trabajo de manera autónoma en el laboratorio, mediante la realización de los diversos análisis de los parámetros de manera independiente, así como la resolución de problemas concretos que pueden surgir a diario en el laboratorio y la toma de decisiones que esto supone, bajo la supervisión de mis tutoras.
- Elaboración de un informe científico: en el transcurso del plan de trabajo mis tutoras me insistieron en la importancia de llevar un cuaderno de laboratorio muy detallado para después poder elaborar un buen informe de resultados, así como la búsqueda y lectura de diversas fuentes bibliográficas que reforzasen los resultados que se obtenían, pudiendo implementar con todo ello mi capacidad de transmisión información.
- Capacidad de interpretación de los resultados obtenidos: esto exige desarrollar una capacidad de análisis y de comprensión de todo lo estudiado para poder interrelacionar los resultados obtenidos de los diferentes parámetros, consiguiendo así una visión más general de lo trabajado.

Del mismo modo, con este trabajo he tenido la oportunidad no sólo de conocer lo que implica la gestión y control de un nuevo alimento, sino que también he podido profundizar en la adquisición de ciertas competencias específicas relacionadas con otros perfiles profesionales de salida de la titulación como son la seguridad alimentaria, el desarrollo e innovación de productos y procesos en la industria alimentaria, la asesoría legal, científica y técnica en el ámbito alimentario y, la docencia e investigación en el mismo.

8. BIBLIOGRAFÍA:

- Barba, F. J., Cortés, C., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2012). Study of antioxidant capacity and quality parameters in an orange juice-milk beverage after high-pressure processing treatment. *Food Bioprocess Technology* **5**, pp. 2222-2232.
- Blasa, M., Gennari, L., Angelino, D. & Ninfali, P. (2010). Chapter 3 – Fruit and Vegetable Antioxidants in Health. *Bioactive Foods in Promoting Health*, pp. 37-58.
- Briñez, W. J. (2006). Estudio de la inactivación por ultra alta presión de homogeneización de microorganismos en alimentos líquidos. Valoración de los procesos de limpieza y desinfección de los equipos. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Cámara, M., Pérez, M. L., López, R., Martí, N., Saura, N. D., et al. (2011) Nutrición y salud. El Libro del Zumo. Capítulo 6, pp. 117-140. Asociación Española de Fabricantes de Zumos, ASOZUMOS.
- Cao, X., Bi, X., Huang, W., Wu, J., Hu, X., & Liao, X. (2012). Changes of quality of high hydrostatic pressure processed cloudy and clear strawberry juices during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **16**, pp. 181–190.
- Chakraborty, S., Rao, P. and Mishra, H. (2015). Kinetic modeling of polyphenoloxidase and peroxidase inactivation in pineapple (*Ananas comosus* L.) puree during high-pressure and thermal treatments. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **27**, pp.57-68.
- Ceroresiduos.eu. (2013). *Objetivos del proyecto LIFE+ de la UE, Cero Residuos*. [online] Available at: <http://ceroresiduos.eu/objetivos/objetivos-39.html>
- Cullen, P. J., Tiwari, B. K., & Valdramidis, V. P. (2012) Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods. Academix Press. Elsevier Inc. ISBN: 978-0-12-381470-8
- Fernández-García, A., Butz, P., Bognar, A., & Tauscher, B. (2001) Antioxidative capacity, nutrient content and sensory quality of orange juice and an orange-lemon-carrot juice product after high pressure treatment and storage in different packaging. *European Food Research and Technology*, **213**, pp. 290-296.
- Gao, Y., Sirinakis, G. and Zhang, Y. (2011). Highly anisotropic stability and folding kinetics of a single coiled coil protein under mechanical tension. *Journal of the American Chemical Society* **133**(32), pp. 12749-12757.
- Hsu (2008) Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing. *LWT - Food Science and Technology*, **41**(3), pp. 450–459.
- Hsu, K. (2008) Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing. *LWT – Food Science and Technology*, **41**(3), pp.450-459.
- Iacopini, P., Camangi, F., Stefani, A., & Sebastiani, L. (2010) Antiradical potential of ancient Italian apple varieties of *Malus x domestica* Borkh. in a peroxynitrite-induced oxidative process. *Journal of Food Composition and Analysis*, **23**(6), pp. 518-524.
- Kaushik, N., Kaur, B. P., Rao, P. S., & Mishra, H. N. (2014). Effect of high pressure processing on color, biochemical and microbiological characteristics of mango pulp (*Mangifera indica* cv. Amrapali). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **22**, pp. 40–50.
- Knorr, D., Heinz, V., & Buckow, R. (2006). High pressure application for food biopolymers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, **1764**, pp. 619-631.
- Liu, Y., Zhao, X. Y., Zou, L., & Hu, X. S. (2013) Effect of high hydrostatic pressure on overall quality parameters of watermelon juice. *Food Science and Technology International* **19**, pp. 197-207.
- Martínez-Navarrete, N., del Mar Camacho Vidal, M. y José Martínez Lahuerta, J. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética*, **12**(2), pp.64-68.

- Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para el recuento de Microorganismos. Parte I: Recuento de colonias a 30°C mediante la técnica de siembra en profundidad. Procedimiento según International Standard Organization ISO 4833-1:2014.
- Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la enumeración de mohos y levaduras. Parte 1: Técnica de recuento en placa para productos con actividad de agua mayor a 0,95. Procedimiento según International Standard Organization ISO 21527-1:2008.
- Mintel.com (2015) *Global Food and Drink Trends 2016* [online] Available at: <http://www.mintel.com/global-food-and-drink-trends-2015>
- Mukhopadhyay, S., Sokorai, K., Ukuku, D., Fan, X., Juneja, V., Sites, J., Classidy, J. (2016). Inactivation of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in cantaloupe puree by high hydrostatic pressure with/without added ascorbic acid. *International Journal of Food Microbiology* **235**, pp. 77-84.
- O' Neil, C. E., Nicklas, T. A., Zhanovec, M. & Fulgoni, V. L. (2011). Diet quality is positively associated with 100% fruit juice consumption in children and adults in the United States: NHANES 2003-2006. *Nutrition Journal* **13**, pp. 10-17.
- Orden de 29 de enero de 1988 por la que se aprueban los métodos oficiales de análisis de zumos de frutas y otros vegetales y sus derivados. BOE nº 31 de 5 de febrero de 1988, páginas 3891 a 3901 (11 págs).
- Patterson, M. F., McKay, A. M., Connolly, M. & Linton, M. (2012) The effect of high hydrostatic pressure on the microbiological quality and safety of carrot juice during refrigerated storage. *Food Microbiology*, **30**, pp. 205-212.
- Polydera, A., Stoforos, N. and Taoukis, P. (2003) Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurized and high pressure processed reconstituted orange juice. *Journal of Food Engineering*, **60**(1), pp.21-29.
- Pulpas-de-frutas.com. (2016) *Pulpa Fruta: Pulpas Frutas Colombia, tropicales, congeladas, pulpas, fruit pulp, concentrados, congelada*. [online] Available at: <http://www.pulpas-de-frutas.com/>
- Randhawa, M. A., Rashid, A., Saeed, M., Javed, M. S., Khan, A. A., et al. (2014). Characterization of organic acids in juices of some Pakistani citrus species and their retention during refrigerated storage. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, **24**, pp. 211-215.
- Raso, J., Pagán, R., y Condón, S. 2002. Combined methods by non-thermal technologies. *Emerging Technologies for the Food Industry*. Ed. Marcel Dekker.
- Rastogi, N., Raghavarao, K., Balasubramaniam, V., Niranjan, K. and Knorr, D. (2007). Opportunities and Challenges in High Pressure Processing of Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **47**(1), pp.69-112.
- Real Decreto 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. BORE nº 11 de 12 de enero de 2001.
- Shellhammer, T. H., Aleman, G. D., McDaniel, M. R. y Torres, J. A. (2003). A comparison of the sensory and chemical properties of orange and apple juices treated with and without high pressure. *IFT Annual Meeting*, Chicago, IL.
- Silveira Rodríguez, M., Monereo Megías, S. y Molina Baena, B. (2003). Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿Cerca o lejos?. *Rev. Esp. Salud Pública*, **77**(3).
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**(3), pp. 144-158.
- Spencer, J. P. (2008). Flavonoids: modulators of brain function. *The British Journal of Nutrition* **99**, pp. 60-70.

- Sukhmanov, V., Shatalov, V., Petrova, J., Birca, A. and Gaceu, L. (2014). The influence of high pressure on bio-system reaction kinetics and the preservation of vitamin C. *LWT – Food Science and Technology*, **58**(2), pp.375-380.
- Sulaiman, A. and Silva, F. (2013). High pressure processing, thermal processing and freezing of ‘Camarosa’ strawberry for the inactivation of polyphenoloxidase and control of browning. *Food Control*, **33**(2), pp.424-428.
- Terefe, N. S., Yang, Y. H., Knoerzer, K., Buckow, R., Versteeg, C. (2010) High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11: pp. 52-60.
- Tokuşoğlu, O. y Swanson, B. (2014). *Improving food quality with novel food processing technologies*, pp. 11-32.
- Torres, E. F., Rodrigo, D. & Martínez, A. (2016). Preservation of Foods. *Reference Module in Food Science*, pp. 491-496.
- Torres, J. A., Velazquez, G. 2005. Commercial opportunities & research challenges in the high pressure processing of foods. *Journal of Food Engineering* **67**, pp. 95-112.
- Unión Europea. Reglamento (UE) n° 1129/2011 de la Comisión, de 11 de noviembre de 2011 por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) n° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo para establecer una lista de aditivos alimentarios de la Unión. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 12 de noviembre de 2011, número 295.
- Vervoort, L., van der Plancken, I., Grawet, T., Timmermans, R. A. H., Mastwijk, H. C., et al. (2011). Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric fields processes for mild pasteurization of orange juice. Part II: Impact on specific chemical and biochemical quality parameters. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **12**, pp. 466-477.
- Wang, X., Ouyang, Y., Liu, J., Zhu, M., Zhao, G., et al. (2014). Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *British Medical Journal* **349**, 1-14.
- Wang, Y., Liu, F., Cao, X., Chen, F., Hu, X., & Liao, X. (2012). Comparison of high hydrostatic pressure and high temperature short time processing on quality of purple sweet potato nectar. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **16**, pp. 326–334.
- Xu, Z., Wang, Y., Ren, P., Ni, Y. and Liao, X. (2015) Quality of Banana Puree During Storage: a Comparison of High Pressure Processing and Thermal Pasteurization Methods. *Food Bioprocess Technol*, **9**(3), pp.407-420.
- Zheng, X., Yu, Y., Xiao, G., Xu, Y., Wu, J., et al. (2014). Comparing product stability of probiotic beverages using litchi juice treated by high hydrostatic pressure and heat as substrates. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **23**, pp. 61-67.
- Zhou, C. L., Liu, W., Zhao, J., Yuan, C., Song, Y., Chen, D., Ni, Y. Y., & Li, Q. H. (2014). The effect of high hydrostatic pressure on themicrobiological quality and physical–chemical characteristics of pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch.) during refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **21**, pp. 24–34.

9. ANEXOS:

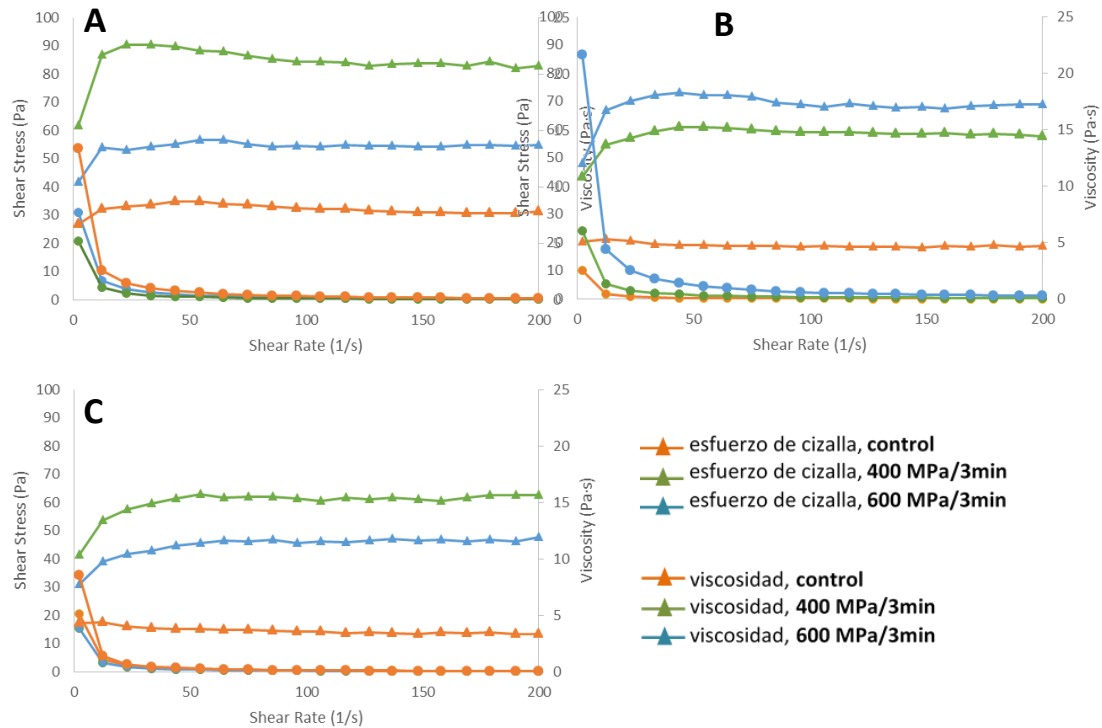


Figura 6. Curva de flujo de pulpas de nectarina control o tratadas mediante HPP (400MPa/3min, 600MPa/3min): influencia del tiempo de conservación en refrigeración (A: 0 días, B: 14 días y C: 28 días) y tipo de tratamiento (ninguno, 400MPa/3min, 600MPa/3min) en el esfuerzo de cizalla y viscosidad de las pulpas.

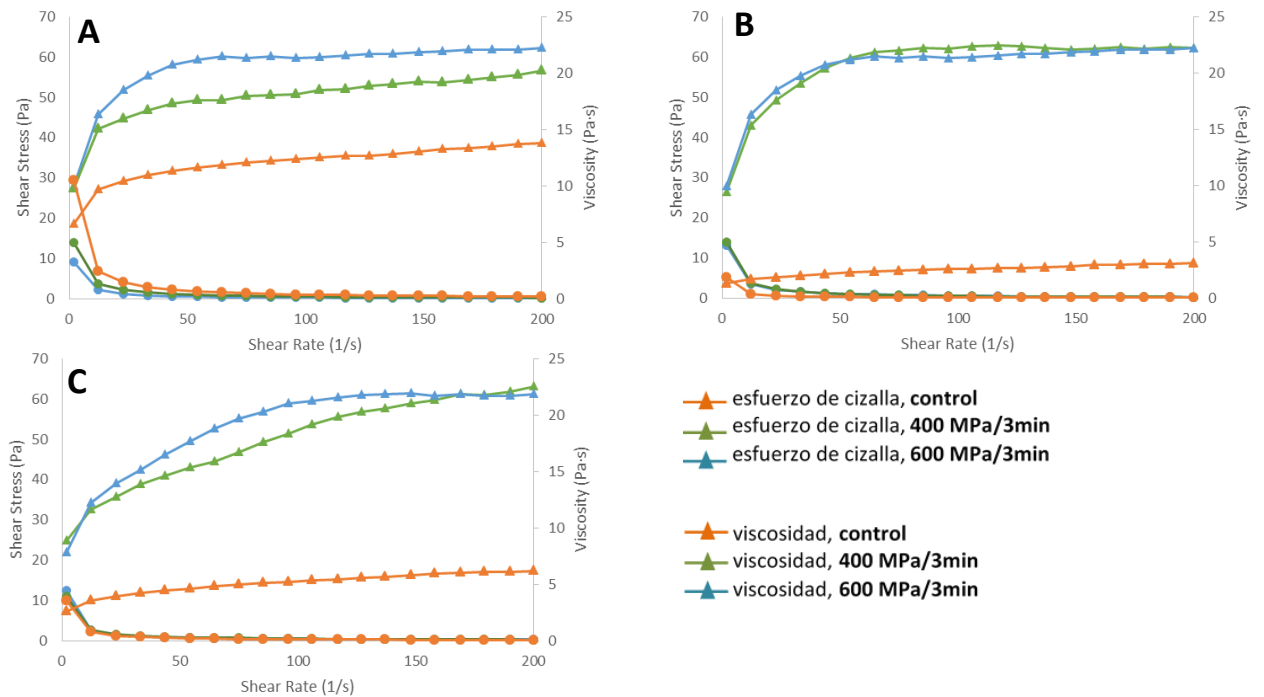


Figura 7. Curva de flujo de pulpas de paraguay control o tratadas mediante HPP (400MPa/3min, 600MPa/3min): influencia del tiempo de conservación en refrigeración (A: 0 días, B: 14 días y C: 28 días) y tipo de tratamiento (ninguno, 400MPa/3min, 600MPa/3min) en el esfuerzo de cizalla y viscosidad de las pulpas.

Tabla 7. Influencia del tiempo de conservación y tipo de tratamiento en la viscosidad de la **pulpa de melocotón** (Pa·s) en cada punto de análisis (0, 14 y 28 días en refrigeración).

PULPA DE MELOCOTON	14 días/4°C			28 días/4°C		
	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min
Velocidad de deformación (1/s)	Viscosidad (Pa·s)					
12,4	1,73	2,99	3,29	1,02	2,10	2,93
22,8	0,96	1,69	1,93	0,53	1,14	1,70
33,3	0,64	1,19	1,40	0,36	0,81	1,23
43,7	0,49	0,93	1,08	0,28	0,61	0,97
54,1	0,41	0,75	0,89	0,23	0,49	0,78
64,5	0,36	0,64	0,76	0,20	0,42	0,65
74,9	0,31	0,56	0,67	0,17	0,36	0,57
85,4	0,28	0,49	0,60	0,15	0,31	0,50
95,8	0,23	0,43	0,54	0,14	0,27	0,45
106	0,21	0,39	0,49	0,12	0,25	0,41
117	0,19	0,35	0,44	0,10	0,23	0,38
127	0,17	0,32	0,42	0,10	0,21	0,34
137	0,15	0,30	0,38	0,09	0,19	0,33
148	0,14	0,27	0,35	0,08	0,18	0,30
158	0,14	0,26	0,33	0,08	0,17	0,28
169	0,13	0,24	0,32	0,07	0,16	0,26
179	0,12	0,23	0,30	0,07	0,15	0,25
190	0,12	0,21	0,28	0,07	0,14	0,23
200	0,11	0,21	0,27	0,07	0,14	0,23

Tabla 8. Influencia del tiempo de conservación y tipo de tratamiento en la viscosidad de la **pulpa de nectarina** (Pa·s) en cada punto de análisis (0, 14 y 28 días en refrigeración).

PULPA DE NECTARINA	14 días/4°C			28 días/4°C		
	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min
Velocidad de deformación (1/s)	Viscosidad (Pa·s)					
12,4	1,71	7,01	4,35	1,71	5,38	4,41
22,8	0,90	3,97	2,32	0,90	3,07	2,50
33,3	0,59	2,72	1,63	0,59	2,17	1,78
43,7	0,44	2,06	1,26	0,44	1,68	1,39
54,1	0,35	1,63	1,05	0,35	1,33	1,13
64,5	0,29	1,37	0,88	0,29	1,12	0,94
74,9	0,25	1,15	0,74	0,25	0,96	0,80
85,4	0,22	1,00	0,64	0,22	0,82	0,70
95,8	0,19	0,88	0,57	0,19	0,72	0,62
106	0,18	0,80	0,51	0,18	0,64	0,56
117	0,16	0,72	0,47	0,16	0,59	0,51
127	0,15	0,65	0,43	0,15	0,54	0,46
137	0,13	0,61	0,40	0,13	0,49	0,43
148	0,12	0,57	0,37	0,12	0,46	0,40
158	0,12	0,53	0,34	0,12	0,43	0,37
169	0,11	0,49	0,33	0,11	0,41	0,35
179	0,11	0,47	0,31	0,11	0,38	0,33
190	0,10	0,43	0,29	0,10	0,36	0,31
200	0,09	0,42	0,27	0,09	0,35	0,29

Tabla 9. Influencia del tiempo de conservación y tipo de tratamiento en la viscosidad de la **pulpa de paraguay** (Pa·s) en cada punto de análisis (0, 14 y 28 días en refrigeración).

PULPA DE PARAGUAYO	14 días/4°C			28 días/4°C		
	control	400MPa/3min	600MPa/3min	control	400MPa/3min	600MPa/3min
Velocidad de deformación (1/s)	Viscosidad (Pa·s)					
12,4	0,30	3,55	3,44	0,75	2,75	2,63
22,8	0,19	2,19	2,11	0,44	1,66	1,64
33,3	0,15	1,63	1,55	0,33	1,25	1,22
43,7	0,12	1,33	1,23	0,27	0,98	0,99
54,1	0,11	1,12	1,01	0,22	0,83	0,87
64,5	0,09	0,95	0,86	0,19	0,72	0,77
74,9	0,08	0,83	0,74	0,17	0,65	0,70
85,4	0,07	0,73	0,65	0,15	0,59	0,63
95,8	0,07	0,66	0,58	0,14	0,55	0,59
106	0,06	0,59	0,53	0,13	0,52	0,54
117	0,06	0,54	0,48	0,12	0,49	0,50
127	0,05	0,50	0,45	0,11	0,46	0,47
137	0,05	0,45	0,42	0,10	0,43	0,43
148	0,05	0,42	0,38	0,10	0,40	0,40
158	0,05	0,39	0,36	0,09	0,38	0,37
169	0,05	0,37	0,34	0,09	0,37	0,35
179	0,04	0,35	0,32	0,09	0,34	0,33
190	0,04	0,34	0,30	0,08	0,33	0,32
200	0,04	0,32	0,30	0,08	0,32	0,3041

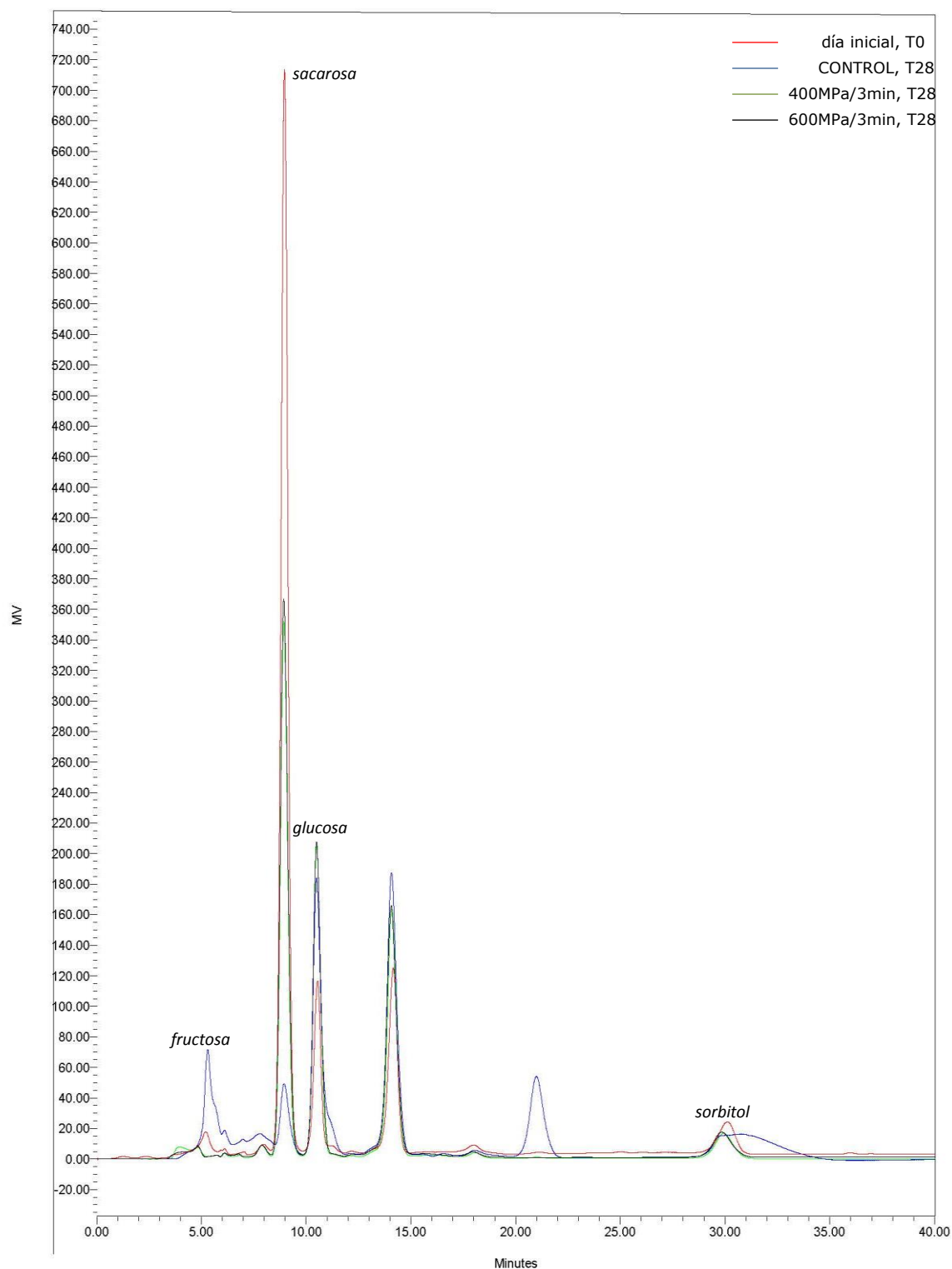
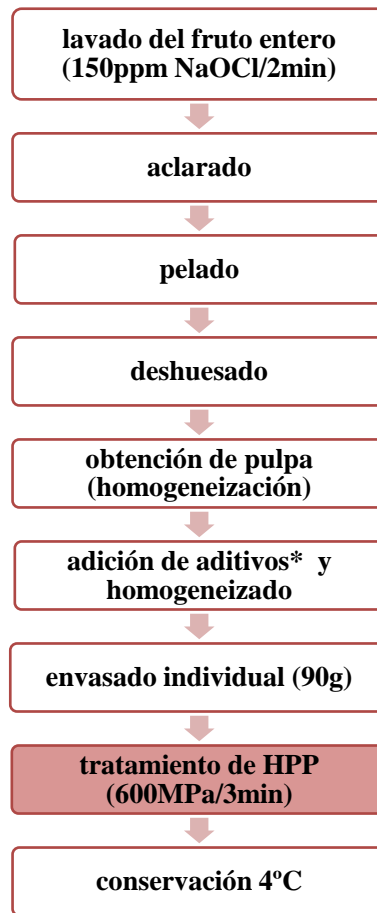


Figura 11. Perfil de azúcares de pulpa de paraguayo en el día inicial (línea roja) y tras 28 días de conservación en refrigeración (control-línea azul; 400MPa/3min-línea verde; 600MPa/3min-línea negra).

- **Diagrama de flujo propuesto para la obtención de pulpas de fruta de hueso ZR, destinadas a alimentación infantil:**



***0,15% ácido ascórbico + 6% azúcar + 4% agua**

- **Pulpas desarrolladas y conservadas durante 28 días en refrigeración e imágenes tomadas durante las sesiones de cata del producto desarrollado.**

